



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                                                                                             |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | 放射線照射ラットの抜歯創治癒過程に関する形態学的研究                                                                                                                                                                  |
| Author(s)           | 飯塚, 正                                                                                                                                                                                       |
| Description         | 歯科基礎医学会, 飯塚 正 = Tadashi Iizuka, 放射線照射ラットの抜歯創治癒過程に関する形態学的研究<br>= Morphological studies on the healing process of extraction wound in irradiated rats, 歯科基礎医学会雑誌, 26(3), SEP 1984, pp.745-785 |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                                                                                       |
| Degree Name         | 博士(歯学)                                                                                                                                                                                      |
| Dissertation Number | 甲第1945号                                                                                                                                                                                     |
| Issue Date          | 1984-03-24                                                                                                                                                                                  |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/30210">https://hdl.handle.net/2115/30210</a>                                                                                                           |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                                                                                             |
| File Information    | thesis.pdf                                                                                                                                                                                  |



## 放射線照射ラットの抜歯創治癒過程に関する 形態学的研究

飯 塚 正

北海道大学歯学部歯科放射線学講座 (主任・指導：山崎岐男教授)

北海道大学歯学部口腔病理学講座 (指導：雨宮 璋教授)

[受付：昭和59年6月14日]

### Morphological studies on the healing process of extraction wound in irradiated rats

Tadashi Iizuka

*Department of Dental Radiology, School of Dentistry, Hokkaido University*

*Kita 13, Nishi 7, Kita-Ku, Sapporo 060*

(Chief and Director : Prof. Michio Yamazaki)

*Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Hokkaido University*

(Director : Prof. Akira Amemiya)

[Accepted for publication June 14, 1984]

**Key words:** irradiation / extraction wound / osteoblast / osteoclast

**Abstract:** The present studies were performed to investigate the healing process of the extraction wound in irradiated rats and to clarify the effect of irradiation on bone formation and resorption.

282 Wistar rats of about 100 g body weight were used. The region of the left upper molars of experimental rats was exposed to 1000 rad or 2000 rad of  $^{60}\text{Co}$ . On the 7th day after irradiation, the left upper first molar of each rat was extracted. The rats were sacrificed at intervals of from 1 day to 28 days after extraction. Control rats were sacrificed at same intervals after extraction. The maxillary bone including the extraction wound was examined histologically, histometrically, histochemically and ultrastructurally.

In irradiated rats, the healing process of extraction wound was disturbed. The osteoblastic new bone formation following production of granulation tissue and periosteal new bone formation was interfered. Histochemical examination revealed that the osteoblasts of irradiated rats reduced enzymatic activity compared with control rats. Ultrastructurally, the cytoplasmic organelles were poorly developed in the osteoblasts of irradiated rats and osteoid formation was reduced.

In irradiated rats, the osteoclasts in the interradicular alveolar bone were more numerous and increased more rapidly as compared with control rats, whereas, histometrically, there was no significant difference in the amount of bone loss between control and irradiated rats. Histochemically, there was no distinct difference in the enzymatic activity in osteoclasts between control and irradiated rats. Ultrastructurally, the cytoplasmic organelles and ruffled border were poorly developed in the osteoclasts of irradiated rats.

The findings suggest that irradiation induced cytological changes in not only osteoblasts but also osteoclasts and these changes resulted in the delayed healing of extraction wound.

#### 緒 言

1895年に Roentgen がX線を発見して以来、放  
札幌市北区北13条西7丁目 (〒060)

射線は物質の透過性、写真作用、蛍光作用などの  
物理的、化学的性質および、細胞分裂の阻害、細胞への致死効果などの生物学的作用により、医学  
の分野において診断、治療に幅広く応用され現在

に至っている。とくに近年、放射線治療装置、照射方法などの改良および外科的療法や化学療法との併用により、悪性腫瘍の治療法として放射線の適応の機会は一層多くなっている。

その反面、放射線による障害も重大な問題として提起されており、舘野<sup>1)</sup>によれば既に1896年に放射線による障害として、Daniel は頭部毛髪脱毛を、Stevens は皮膚の発赤を報告しているといわれている。

口腔領域の悪性腫瘍は直視可能な部位に発生することが多く、また口腔諸組織の形態、機能保持の立場から放射線治療が優先される事が多い<sup>2,3)</sup>。しかしこのような放射線治療に伴い、唾液腺機能障害<sup>4-6)</sup>、顎骨の放射線骨壊死<sup>7-14)</sup>など、腫瘍組織以外の正常な組織に対する放射線障害がしばしば発生する事が知られている。

とくに顎骨の放射線障害としての放射線骨壊死は、乳癌、子宮癌などの放射線治療後に発現する肋骨、胸骨、鎖骨、大腿骨などの放射線骨壊死に比べ一般に高率を示すといわれており<sup>8,14)</sup>、また臨床的に激しい疼痛を伴い、長期にわたり難治性で、積極的治療法も乏しい<sup>15)</sup>など、臨床的に大きな問題となっている。

顎骨の放射線障害に関する研究は1922年 Regaud<sup>16)</sup>が臨床的に口腔癌に随伴した *ostéo-radio-nécrose* を初めて報告して以来、臨床的<sup>7-13)</sup>、実験的<sup>17-21)</sup>に数多くの研究がなされている。これらの研究では顎骨の放射線障害の原因として種々の説が述べられているが、骨の細胞成分への放射線の直接的影響、照射野内の血管障害の他に、唾液腺、粘膜、歯牙、歯周組織の障害に基づく感染、咬合性外傷や拔牙などの外科的処置が放射線障害をより重篤にするのではないかと考えられている。

このうちとくに拔牙と放射線骨壊死との関連については関心がもたれ、顎骨の放射線障害に及ぼす拔牙の影響については多くの臨床的<sup>22-24)</sup>、実験的<sup>24-31)</sup>研究がなされている。これらの研究では、照射後の拔牙は治癒過程が障害され易く、放射線骨壊死の誘因となり得ると考えられている。

しかしそれらの研究の多くは放射線骨壊死の発生との関連を検索したものであり、直接拔牙創の治癒過程に及ぼす放射線の影響についての検索は

少なく、わずかに Frandsen<sup>27)</sup>、Horn ら<sup>30)</sup>、清水<sup>31)</sup>の報告があるにすぎない。それらの研究によると、照射群では肉芽組織の形成不良、骨新生の遅延、著明な骨吸収、上皮被覆の遅延が観察され、それらが拔牙創治癒過程を遅延させる要因と考えられている。しかし、それらの要因に対する放射線の作用機序および骨の新生、吸収といった骨代謝に及ぼす放射線の基本的な影響については詳細な検索はなされていない。

一方、放射線による微細構造的変化については、唾液腺<sup>32-35)</sup>、歯胚<sup>36)</sup>、口腔粘膜<sup>37)</sup>などについては比較的多くの検索がなされているが、骨組織についての検索は、わずかに骨細胞<sup>38)</sup>についての報告がみられるにすぎない。

本研究は放射線の拔牙創の治癒過程の比較的前期にみられる骨新生や骨吸収に対する影響を組織学的、電顕的に検索し、放射線照射が骨代謝に及ぼす影響を明らかにする目的でなされた。

## 実験材料および方法

### 1. 組織学的検索

実験開始時体重約100gのWistar系雄ラット122匹を用いた。実験期間中、オリエンタル固型飼料(MF)と十分な水道水を与えて飼育した。照射群と非照射群(対照群)の2群に分け、照射群には上顎左側臼歯部に<sup>60</sup>Co-γ線、1000radおよび2000radを1回照射した。照射は、本学アイソトープ総合センターにおいて<sup>60</sup>Co遠隔治療装置を用いて行った。ソムノベンチール腹腔内注射(0.4ml/kg体重)により麻酔を施し、鉛ブロックにて上顎左側臼歯部に10×8mmの照射野を設定し、焦点皮膚間距離58cm、線量率211R/minで1000radおよび2000radを1回照射した。照射後7日目に上顎左側第一臼歯を抜去した。

拔牙後1日、2日、2.5日、3日、5日、7日、10日、14日、21日、28日目にエーテルの吸入により屠殺した。対照群として正常ラットおよびWeight-Pairラットを用い、上顎左側第一臼歯を抜去し、同様の間隔で屠殺した。屠殺後直ちに断頭し、拔牙窩を含む上顎、頭蓋を一塊として取り出し10%中性ホルマリンで固定、Plank-Rychlo法で脱灰後、パラフィンに包埋し、第一臼歯の遠心根長

軸を含む前頭断の平面で  $5\mu\text{m}$  の連続切片を作製した。標本はヘマトキシリン・エオジン染色(HE), アザン・マロリー染色(AM), エラスチカ・ワンギーソン染色(EVG), 鍍銀染色, 過ヨウ素酸メセナミン銀染色(PAM)等を施し組織学的に検索した。

## 2. 組織計量学的検索

抜歯創の治癒過程における肉芽組織の形成, 骨の新生, 吸収等を定量的に把握するため以下の組織計量学的検索を行った。

測定にあたり, 連続切片で右側第一臼歯遠心根と左側抜歯窩を含む  $30\mu\text{m}$  毎の3~5枚を使い, その平均値をとった。また両群各時期についてそれぞれ3~5匹のラットを用いた。

### 1) 肉芽組織中の線維芽細胞数および血管数

抜歯後1~5日目の標本を用い, 頰側根抜歯窩を3等分し, 窩底部約  $\frac{1}{3}$  の部分にみられた線維芽細胞数および血管数を計測した。

測定には接眼マイクロメーターを用い,  $50\mu\text{m} \times 50\mu\text{m}$  中の線維芽細胞数, および  $500\mu\text{m} \times 500\mu\text{m}$  中の血管数を計測した。

### 2) 抜歯窩底部の骨芽細胞数および新生骨量

抜歯後1~5日目の頰側根抜歯窩底部の骨芽細胞数および新生骨量を計測した。

測定には骨新生部が比較的観察しやすいアザン・マロリー染色標本を用い,  $250\mu\text{m} \times 250\mu\text{m}$  中の骨芽細胞数を計測した。また, 新生骨量は Leitz Neo-PROMAR 投影顕微鏡にて102倍に投影描画したものを Leitz ASM 画像解析装置で計測した。

### 3) 遠心根中隔歯槽骨部の破骨細胞数および中隔歯槽骨量

抜歯後1~5日目の標本を用い, Leitz Neo-PROMAR 投影顕微鏡にて80倍に投影描画したものを測定した。中隔歯槽骨量の測定は進藤<sup>39)</sup>の方法に準じて行った。すなわち, 基準点として上顎外側垂直面移行部をA点, 頰側根齒槽結節骨頂部をB点とし, 線分ABに対しAより  $80^\circ$ , ABの中点Cより  $70^\circ$  の線分を設け, その間に存在する骨の面積を, Leitz ASM 画像解析装置にて測定した(Fig. 1)。また同部に存在した破骨細胞数を計測した。破骨細胞の測定にあたり, 多核であ

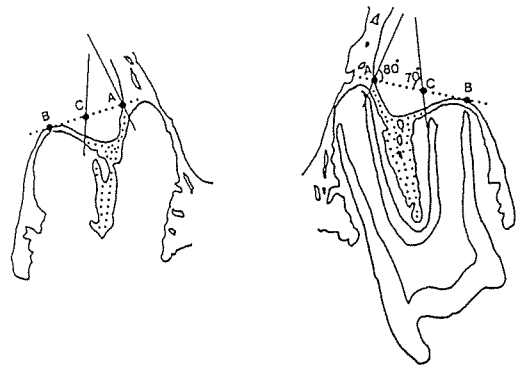


Fig. 1 Schematic representation of method of histometry. Frontal section through long axis of distal roots of upper first molar.

り, 好酸性の細胞質を有し, 骨に接して Howship 窩を認めることなどを基準として測定した。

4) 線維芽細胞, 骨芽細胞, 破骨細胞の大きさ  
抜歯後2~5日目の頰側根抜歯窩底部および中隔歯槽骨部の顕微鏡写真を作製し, Leitz ASM 画像解析装置を用い, 写真上で線維芽細胞, 骨芽細胞, 破骨細胞の面積を測定した。

## 3. 組織化学的検索

実験開始時体重約100gのWistar系雄ラット68匹を用いた。照射群と非照射群(対照群)に分け, 組織学的検索と同様の過程で, 抜歯後1日, 2日, 2.5日, 3日, 5日目に屠殺した。屠殺後, 抜歯窩を含む上顎骨を取り出し, 0.1M カコジレイト緩衝液(pH 7.3)で調整した4%パラホルムアルデヒド-2.5%グルタルアルデヒド混合液( $4^\circ\text{C}$ , 7%蔗糖を含む)で2時間固定後, 0.1M カコジレイト緩衝液( $4^\circ\text{C}$ , pH 7.3, 7%蔗糖を含む)で洗浄, 10% EDTA ( $4^\circ\text{C}$ , pH 7.3, 7%蔗糖を含む)で96時間脱灰し, 0.1M カコジレイト緩衝液( $4^\circ\text{C}$ , pH 7.3, 7%蔗糖を含む)で洗浄後, 凍結切片を作製し, 次の酵素について検索した。

### 1) リンゴ酸脱水素酵素

Barka, Anderson の方法<sup>40)</sup>により NAD 依存性酵素活性を検出した。

### 2) 酸フォスファターゼ

Barka, Anderson のアゾ色素法<sup>41)</sup>に従い染色した。基質には AS-TR リン酸塩を用いた。

### 3) アルカリフォスファターゼ

小川らのクエン酸鉛法<sup>12)</sup>により染色した。

#### 4. 電顕的検索

実験開始時体重約 100g の Wistar 系雄ラット 92匹を用いた。屠殺までの方法、間隔は組織化学的検索と同様である。

屠殺後直ちに抜歯窩を含む左側上顎骨を取り出し、0.1M カコジleit緩衝液 (pH 7.3) で調整した 4% パラホルムアルデヒド-2.5% グルタルアルデヒド混合液 (4°C, pH 7.3, 7% 蔗糖を含む) で浸漬固定した。OsO<sub>4</sub> で後固定し、未脱灰のままアルコール系列で脱水し、プロピレンオキサイドで置換し、Quetol 812 に包埋した。超薄切片の作製に先立ち、厚さ 1  $\mu$ m の半超薄切片を作製し、トリイジン青染色、Kossa-トリイジン青染色、PAM 染色を施し光顕的に検索した。超薄切片は Diatome 社ダイヤモンドナイフを用い、Dupont MT 5000 ultramicrotome を使用して作製した。染色は酢酸ウラニル・クエン酸鉛二重染色 (UA & LC)、クエン酸鉛染色 (LC)、燐タンゲステン酸染色 (PTA) 等を施し、日立 H-800 型電子顕微鏡で観察した。

## 結 果

実験期間中の各群の体重の変化は Fig. 2 に示すとおりである。

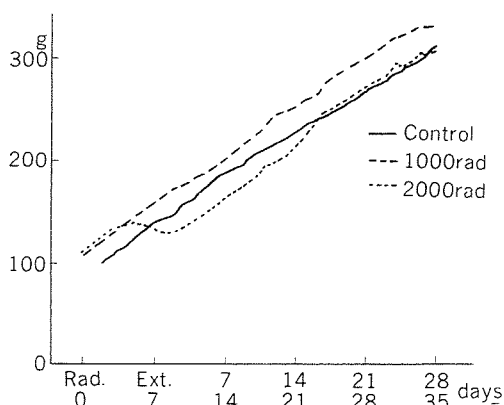


Fig. 2 Change of body weight.

対照群では実験開始後、体重は経時的に増加する傾向を示しており、抜歯による体重の変化は認められなかった。

1000rad 照射群の体重は、照射後、抜歯後も変化はみられず対照群とほぼ同様に増加する傾向を示しており、全身的、局所的にも明らかな変化はみられず、肉眼的には抜歯創の治癒状態は良好であった。

2000rad 照射群では、照射後 5 日目頃より照射部位に一致して脱毛がみられ、餌の摂取量は減少し、体重の減少を示した。その後、照射後 10 日目頃まで体重の増加は認められなかった。照射後 10 日目頃には脱毛はみられなくなり、体重はそれ以後対照群、1000rad 照射群と同様に経時的に増加する傾向を示した。肉眼的には抜歯時より抜歯後 10 日目頃まで頬粘膜より口蓋粘膜にかけて潰瘍が認められたが、それ以後、潰瘍はみられなかった。

#### 1. 組織学的所見

##### 1) 対照群の抜歯創の所見

抜歯後 1 日目では抜歯窩は凝血で満たされており、頬側歯槽骨壁および中隔歯槽骨部には残存歯根膜が一部認められた。中隔歯槽骨の骨髓腔は拡大する傾向を示し、破骨細胞もわずかに認められた。抜歯窩底部には、拡張した小血管に富む幼若な肉芽組織がわずかに認められた。抜歯窩外側の骨膜は頬側および窩底部で肥厚していた。

抜歯後 2~3 日目には、抜歯窩周囲の上皮は抜歯窩を覆うように伸展する傾向を示し、中隔歯槽

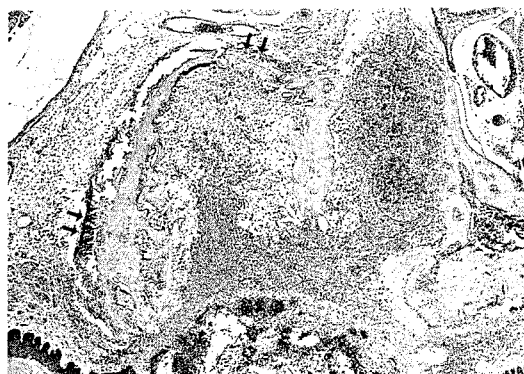


Fig. 3 Extraction wound of control rat (Control), 2.5 days after extraction (P. E. 2.5d): Production of granulation tissue is observed at the bottom in socket. The periosteum is proliferating at the buccal and basal part of alveolar bone (arrow). HE  $\times 25$

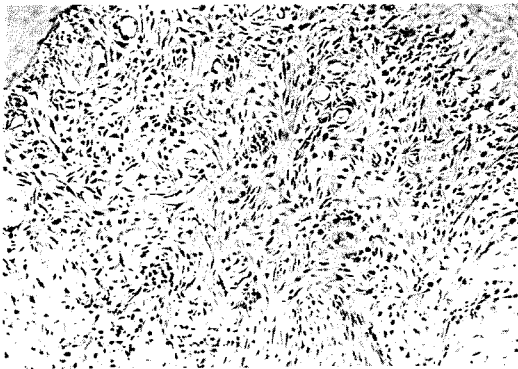


Fig. 4 Control, P. E. 2.5d.: Granulation tissue. Partly recognizable new bone formation. HE×150

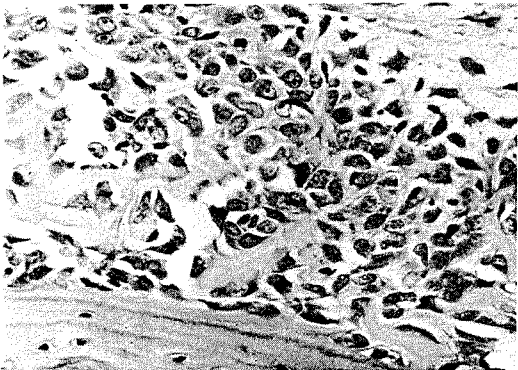


Fig. 5 Control, P. E. 3d.: Periosteal new bone formation; osteoblasts showing active osteoid formation. HE×340

骨の骨髓腔はさらに拡大し、多数の破骨細胞が認められた。窩底部の肉芽組織は線維芽細胞や小血管の密度を増し、一部では梁状の新生骨の形成もみられた (Figs. 3, 4)。抜歯窩外側の骨膜は広範囲に肥厚し、頰側および窩底部では梁状の新生骨が認められた (Figs. 3, 5)。

抜歯後5日目には、抜歯窩はほぼ完全に肉芽組織により置換され、窩底部より約 $\frac{1}{2}$ の部位まで骨芽細胞による梁状の新生骨の形成がみられ (Figs. 6, 7)、抜歯窩外側の骨膜には多量の新生骨が認められた (Fig. 6)。

抜歯後7日目には、抜歯窩は完全に上皮で被覆され、上皮は厚みを増し、基底細胞層、有棘細胞層、角化層が区別されるようになった。抜歯窩内の新生骨はその量を増し、抜歯窩の約 $\frac{2}{3}$ を満たしていた。この時期には中隔歯槽骨部にも新生骨が

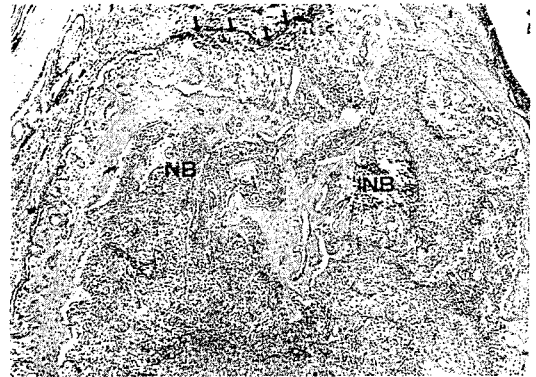


Fig. 6 Control, P. E. 5d.: Granulation tissue occupying the most part of socket. Marked new bone (NB) formation at the bottom and periosteal new bone formation (arrow). HE×30

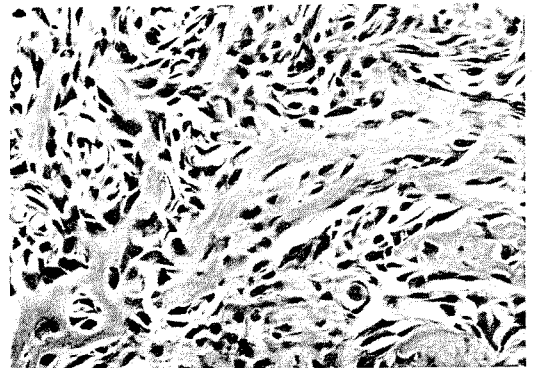


Fig. 7 Control, P. E. 5d.: New bone formation in socket; numerous active osteoblasts are seen adjacent to new bone trabeculae. HE×280

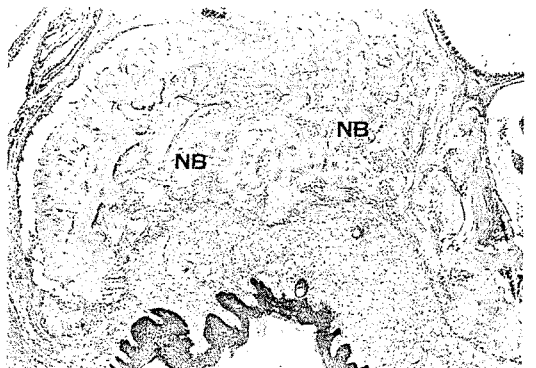


Fig. 8 Control, P. E. 10d.: Socket is almost filled with newly formed bone (NB). The epithelium is completely covering socket. HE×25

認められ、破骨細胞はほとんどみられなかった。拔牙窩外側の骨膜性骨新生はその量を増し、既存骨と移行する傾向を示していた。

その後、拔牙窩内および拔牙窩外側の骨膜の新生骨は増加し、拔牙後10日目には、拔牙窩はほぼ新生骨で満たされるようになり (Fig. 8), 拔牙後21日目には、新生骨は緻密となり骨髓細胞を含んだ骨髓腔も多数認められた。拔牙後28日目には、拔牙窩全体が既存骨と類似した成熟した骨組織で完全に置換されていた。

また、Weight-Pair 対照群においても、拔牙創の治癒過程は、対照群とほぼ同様であり、著しい差異は認められなかった。

超薄切片の作製に先立ち作製した半超薄切片をトルイジン青染色, Kossa-トルイジン青染色, PAM 染色等を施して観察すると、窩底部には新生骨梁に接して多角形の比較的大型の骨芽細胞が認められた。このような骨芽細胞は豊富な細胞質を有し核が偏在する傾向を示しており、PAM 染色では骨芽細胞の周囲に多量の類骨組織が認められた。一方、中隔歯槽骨には大型の破骨細胞が多数出現し活発に骨を吸収している像がみられた。破骨細胞に面した骨表面は陥凹を示し、トルイジン青に濃染する層として認められた。破骨細胞の骨に面した部位は刷子縁構造を示し、その部の細胞質には多数の空胞が認められた。また、拔牙窩外側の骨膜性骨新生部には多角形の比較的大型の骨芽細胞による活発な骨新生像がみられた。骨芽細胞周囲には多量の類骨組織が認められ、新生骨梁内には比較的大型の骨細胞も多数みられた。

## 2) 1000rad 照射群の拔牙創の所見

1000rad 照射群の拔牙創の治癒過程は全般的に対照群に比べ遅延する傾向を示していた。

拔牙後1日目では、拔牙窩は凝血で満たされており、残存歯根膜は窩壁に沿って比較的広範囲にみられた。

拔牙後2~3日目には、窩底部より肉芽組織の増生がみられるが、対照群に比し線維芽細胞、血管の数はやや少なく線維形成も減弱していた (Figs. 9, 10)。また、一部では骨芽細胞による骨新生もみられるが、骨芽細胞の数は少なく、新生骨量も少なかった。一方、中隔歯槽骨部には、



Fig. 9 Extraction wound of the rat exposed 1000 rad (1000rad), P. E. 2.5d.: Blood clot and remaining periodontal ligament (arrow) are widely seen in socket. Dilated marrow spaces of interradicular alveolar bone. HE×25



Fig. 10 1000rad, P. E. 2.5d.: Granulation tissue; fibroblasts are less numerous than control. HE×150

拔牙後早期より、比較的多数の破骨細胞が認められた。拔牙窩外側の骨膜は窩底部および頬側の一部で肥厚し、一部では骨芽細胞による骨新生もみられたが、その量は少なく、骨新生がみられた部位でも、骨芽細胞は対照群に比し小型でその数も少なかった。

拔牙後5日目には、拔牙窩はほとんど肉芽組織により置換されていたが、中隔歯槽骨壁に沿って一部残存歯根膜がみられた。窩底部肉芽組織中の線維芽細胞は対照群に比し少なく、線維形成も不良であった。骨芽細胞による骨新生もみられるが、骨芽細胞もやや小型でその数も少なく、新生骨量も少なかった。この時期においても中隔歯槽

骨骨頂部および頰側歯槽骨骨頂部には比較的多数の破骨細胞が認められた。拔牙窩外側の骨膜性骨新生も認められるが、対照群に比し骨芽細胞の数は少なく、新生骨量も少なかった (Fig. 11)。

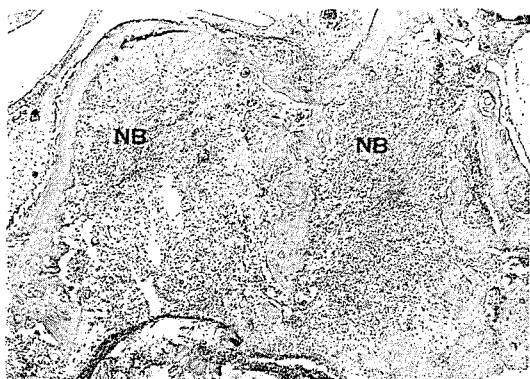


Fig. 11 1000rad, P. E. 5d.: Granulation tissue occupying socket; new bone formation (NB) is seen at the bottom in socket, but the amount of newly formed bone is less than control. HE×30

拔牙後10日目においても、拔牙窩辺縁の上皮は伸展するものの拔牙窩を覆うには至らず、拔牙窩内の新生骨は窩底部より約 $\frac{1}{3}$ を占めるにすぎず、新生骨梁は対照群に比し細く骨質も鬆疎であった (Fig. 12)。中隔歯槽骨骨頂部には少数ながら破骨細胞が認められた。

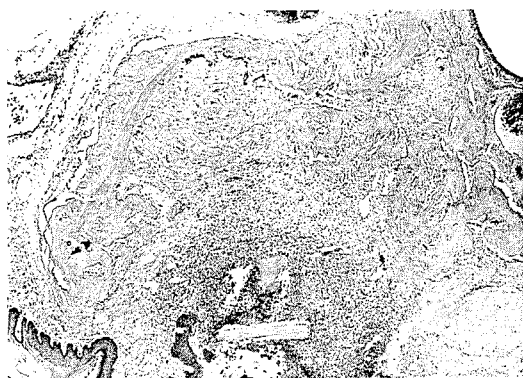


Fig. 12 1000rad, P. E. 10d.: Newly formed bone trabeculae are less and finer than control. The epithelium is not completely covering socket. HE×25

拔牙後14日目には拔牙窩は完全に上皮で被覆され、拔牙窩内の新生骨はその量を増し、拔牙窩の約 $\frac{2}{3}$ を満たしていたが、対照群に比し新生骨梁は

やや細く骨髓腔は拡大していた。拔牙後21日目には拔牙窩はほとんど新生骨梁で満たされていたが、骨髓腔は少数の血管を含む鬆疎な線維性組織で占められ、骨髓性細胞はほとんど認められず、同時期の対照群に比べ骨の改造は遅延していた。

半超薄切片での観察では、1000rad 照射群においても拔牙窩底部の骨新生部に比較的大型の骨芽細胞が認められたが、対照群に比しその数は少なく類骨組織の量も少なかった。一方、中隔歯槽骨部にみられた破骨細胞は骨表面に沿って刷子縁構造を示していたが、対照群に比べその領域は狭いものが多かった。拔牙窩外側の骨膜性骨新生部では紡錘型～多角形の骨芽細胞が認められたが、その数は対照群に比し少なく細胞周囲の類骨組織も鬆疎であった。

### 3) 2000rad 照射群の拔牙創の所見

2000rad 照射群では、拔牙創の治療過程は、対照群および1000rad 照射群に比べ著しく遅延する傾向を示していた。

2000rad 照射群では、拔牙後1日目より10日目まで、左側頬粘膜から口蓋粘膜にかけて潰瘍が認められた。

拔牙後1日目では、拔牙窩は凝血で満たされており、窩壁のほぼ全周にわたり拡張した血管を含む比較的多量の残存歯根膜が認められた。中隔歯槽骨骨髓腔および頰側歯槽骨骨髓腔には、拡張した血管に近接して、同時期の対照群に比べ比較的

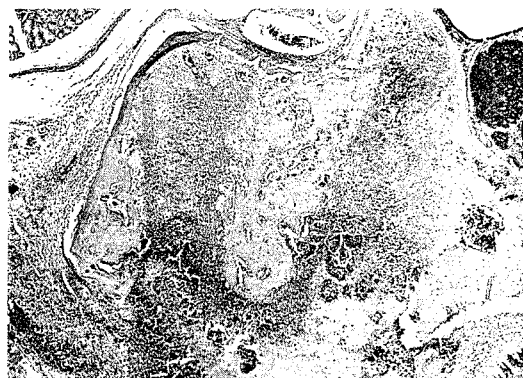


Fig. 13 Extraction wound of the rat exposed 2000rad (2000rad), P. E. 2d.: Marked inflammatory cells infiltration is seen at the top of socket. Dilated marrow spaces of interradicular alveolar bone. HE×25

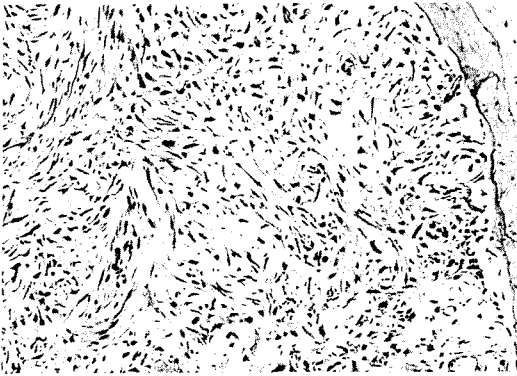


Fig. 14 2000rad, P. E. 3d.: Granulation tissue; fibroblasts are smaller and less numerous than control. HE×150

多数の破骨細胞が認められた。

抜歯後2～3日目では、抜歯窩底部に線維芽細胞の増生はみられるが、対照群に比し線維芽細胞は小型で細胞密度は低く、血管数も少なかった (Figs. 13, 14)。窩底部の骨に接してわずかに骨芽細胞による骨新生がみられるが、同時期の対照群、1000rad 照射群に比べその量は著しく少なかった。中隔歯槽骨骨髓腔には比較的小型の破骨細胞が多数みられた (Fig. 15)。抜歯窩外側の骨膜に肥厚は認められなかった。

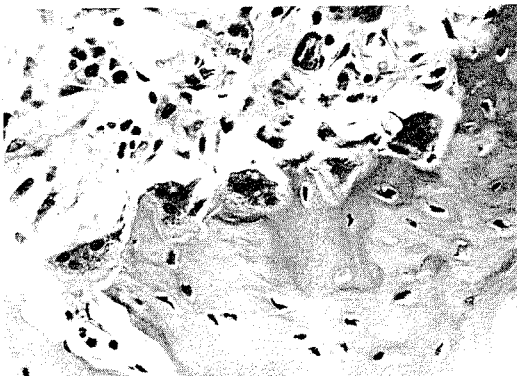


Fig. 15 2000rad, P. E. 2d.: Relatively smaller osteoclasts are seen on bone surface. HE×250

抜歯後5日目では、抜歯窩は肉芽組織でほとんど満たされていたが、まだ窩壁に沿って一部残存歯根膜が認められた。抜歯窩内の肉芽組織中の線維芽細胞や血管の密度は低く線維も鬆疎であった (Fig. 16)。窩底部では骨芽細胞による骨新生像がみられたが、骨芽細胞は小型で数も少なく、骨

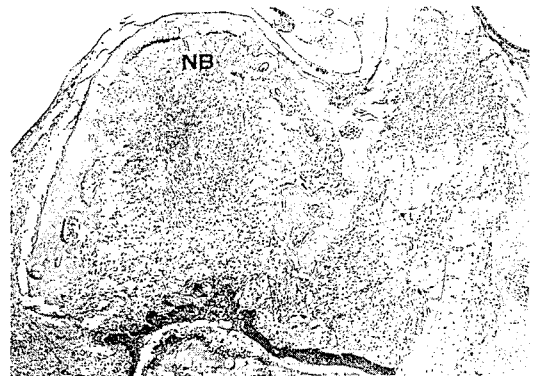


Fig. 16 2000rad, P. E. 5d.: Granulation tissue occupying socket; remaining periodontal ligaments spread in socket. New bone formation (NB) at the bottom is less active than control. Periosteal new bone formation is not yet recognizable. HE×30

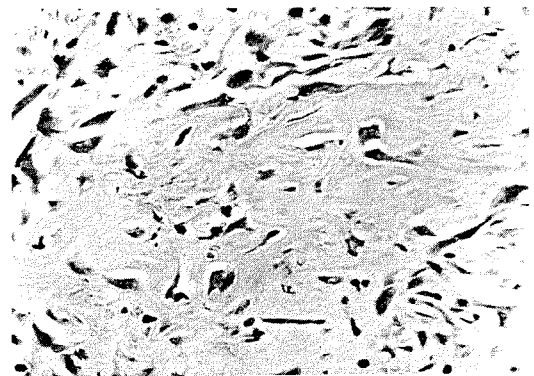


Fig. 17 2000rad, P. E. 5d.: New bone formation in socket; osteoblasts are smaller and less numerous than control. HE×280

質も鬆疎であった (Fig. 17)。この時期においても抜歯窩外側の骨膜性骨新生は全く認められなかった。

抜歯後7日目においても、中隔歯槽骨壁および口蓋側歯槽骨壁の一部に残存歯根膜がみられた。

抜歯後10日目では、抜歯窩は細胞成分に乏しい鬆疎な肉芽組織で占められており、抜歯窩底部の骨芽細胞による骨新生は対照群に比し著しく減少していた (Fig. 18)。抜歯窩外側の骨膜性の骨新生は全くみられなかった。

抜歯後14日目では抜歯窩は上皮で被覆されたが、上皮は菲薄で一部では角化層を欠いていた。抜歯窩内の新生骨は増加し、抜歯窩の約 $\frac{1}{2}$ を占め

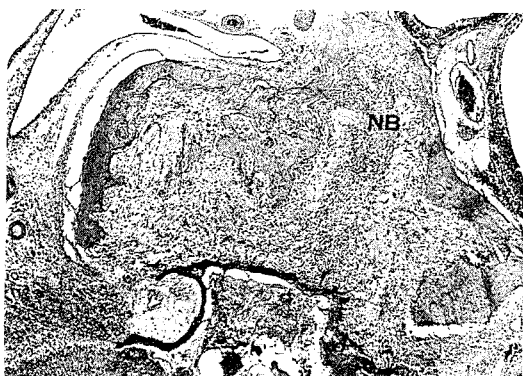


Fig. 18 2000rad, P. E. 10d.: Newly formed bone (NB) at the bottom is strikingly less than control. Periosteal new bone formation is not yet recognizable. HE×25

るが、対照群に比しその量は少なく骨質も鬆疎であり、骨梁間には疎な線維性組織がみられた。拔牙窩外側の骨膜性骨新生はほとんど認められなかった。その後拔牙後28日目にかけて、拔牙窩内の新生骨量は増加するが、新生骨の性状は鬆疎で、骨髓腔には骨髓性細胞は認められなかった。骨膜性骨新生はこの時期においてもほとんどみられなかった。

2000rad 照射群における半超薄切片での観察では、拔牙窩底部の骨芽細胞は、対照群に比し小型で細胞周囲の類骨組織は少なく鬆疎であった。中隔歯槽骨部には比較的多数の破骨細胞がみられたが、対照群に比しやや小型のものが多く、骨表面に接して刷子縁構造が認められたが、不明瞭でその領域は狭く、幅も小さかった。拔牙窩外側の骨膜ではわずかに骨芽細胞が認められるが、対照群に比し少なく、小さいものが多かった。周囲の類骨組織の量もわずかであった。

## 2. 組織計量学的所見

### 1) 肉芽組織中の線維芽細胞数、血管数の測定結果

拔牙後1～5日目の頬側根拔牙窩底部の単位面積中の線維芽細胞数、および血管数を測定した。各時期の線維芽細胞数は Fig. 19、血管数は Fig. 20 に示すとおりである。

対照群の線維芽細胞数は、拔牙後1～2.5日目にかけて急激な増加を示し、その後骨の新生に伴い経時的に減少した。

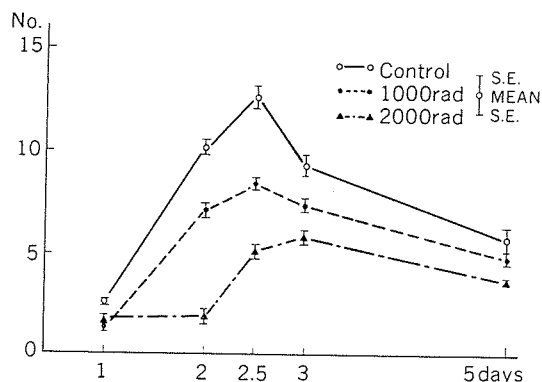


Fig. 19 Number of fibroblast seen in granulation tissue. (50μm×50μm)

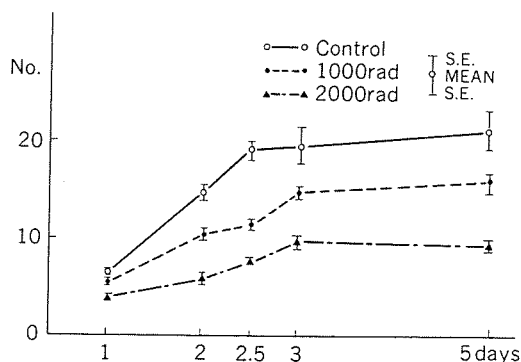


Fig. 20 Number of capillary seen in granulation tissue. (500μm×500μm)

一方、照射群では、線維芽細胞数は拔牙後1～2.5日目にかけて増加する傾向を示すもののその値は対照群に比し有意に小さく ( $p < 0.05$ )、とくに 2000rad 照射群でのその傾向は著明であった。

拔牙窩肉芽組織中にみられた血管数は対照群では線維芽細胞数と同様に拔牙後1～2.5日目にかけて増加しその後、拔牙後5日目にかけて微増する傾向を示していた。

照射群の血管数は線維芽細胞数と同様に対照群に比し有意に小さい値を示し ( $p < 0.05$ )、その傾向は 2000rad 照射群において著明であった。

### 2) 拔牙窩底部の骨芽細胞数および新生骨量の測定結果

拔牙後1～5日目の頬側根拔牙窩底部にみられた骨芽細胞数および新生骨の面積を測定した (Figs. 21, 22)。

対照群では骨芽細胞は拔牙後1日目には、ほとんど認められないが、その後、経時的に増加する

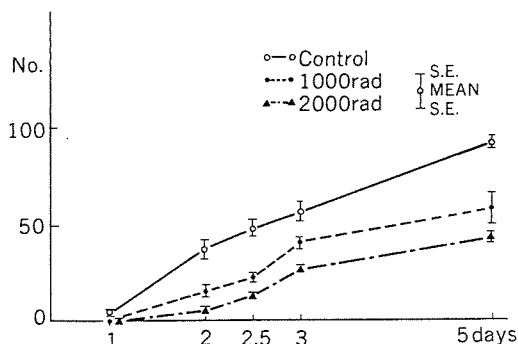


Fig. 21 Number of osteoblast seen in socket. (250 $\mu$ m $\times$ 250 $\mu$ m)

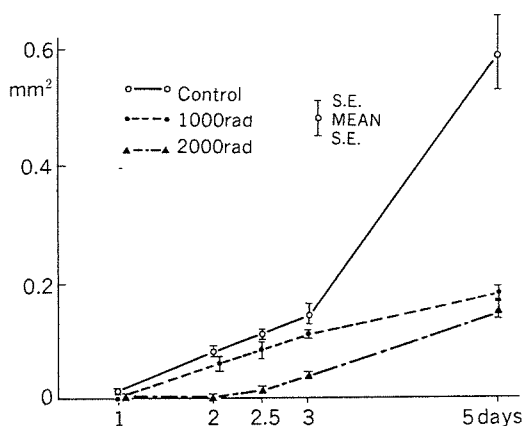


Fig. 22 The amount of newly formed bone in socket.

傾向を示していた。

一方、照射群では経時的に増加する傾向を示すものの、その値は対照群に比し有意に小さく ( $p < 0.05$ ), とくに 2000rad 照射群においてその傾向は著明であった。

対照群の頰側根拔牙窩底部の新生骨量は、同部にみられた骨芽細胞数と相関し、拔牙後 1~3 日目にかけてゆるやかに増加し、拔牙後 3~5 日目に急激に増加する傾向を示していた。照射群では、新生骨量は経時的に増加する傾向を示すものの、その値は対照群に比し小さく、拔牙後 5 日目の新生骨の面積は、1000rad 照射群で対照群の約 30%, 2000rad 照射群では対照群の約 25% であり有意差 ( $p < 0.05$ ) が認められた。

3) 遠心根中隔歯槽骨部の破骨細胞数および中隔歯槽骨量の測定結果

拔牙後 1~5 日目の中隔歯槽骨部の破骨細胞数

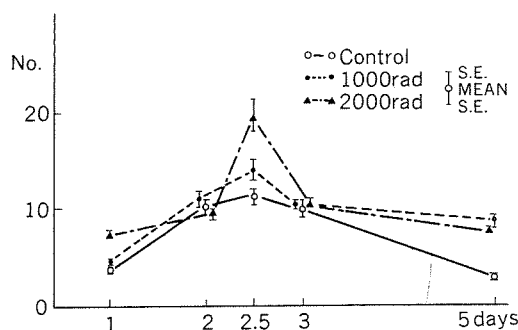


Fig. 23 Number of osteoclast seen in interradicular area of alveolar bone.

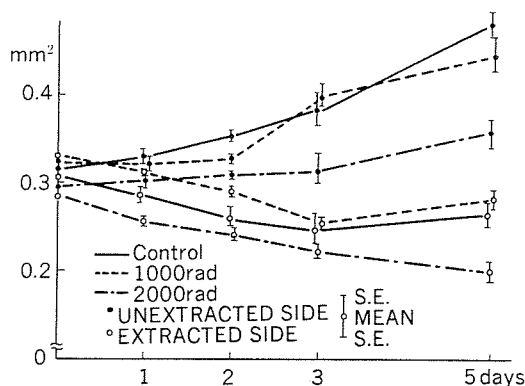


Fig. 24 Absolute amount of bone in histometrical study.

および中隔歯槽骨の面積は Fig. 23, 24 に示すとおりである。

対照群では中隔歯槽骨部の破骨細胞数は拔牙後 2.5 日目まで経時的に増加しその後拔牙後 5 日目にかけて減少した。

照射群では拔牙後 1 日目より、対照群に比べ多数の破骨細胞が出現し、拔牙後 2.5 日目に増加し、その後減少する傾向を示していたが、1000rad 照射群では、拔牙後 5 日目に、2000rad 照射群では拔牙後 1, 2.5, 5 日目に対照群に比し有意差 ( $p < 0.05$ ) をもって多数の破骨細胞が認められた。とくに 2000rad 照射群では拔牙後 2.5 日目に多くの破骨細胞がみられた。

対照群の中隔歯槽骨の面積は非拔牙側では経時的に増加する傾向を示していた。拔牙直後ではその面積は平均値で 0.212mm<sup>2</sup> であり、以後拔牙後 5 日目には 0.508mm<sup>2</sup> まで達した。拔牙側では骨面積は拔牙後 3 日目まで経時的に減少する傾向を

示していた。抜歯後3日目の時点で抜歯側の骨量は非抜歯側の63%であり、抜歯直後との比較でも抜歯直後の骨量の79%まで減少していた。

照射群での非抜歯側の骨面積も経時的に増加する傾向を示しており、その増加量は1000rad照射群では差はみられなかったが、2000rad照射群では対照群に比し小さい値を示していた。2000rad照射群の非抜歯側の骨面積の増加量は対照群と比べ抜歯後3日目まで有意な差はみられなかったが、抜歯後5日目では有意差( $p<0.05$ )が認められた。抜歯側での骨面積も対照群と同様に抜歯後3日目まで経時的に減少する傾向を示していた。非抜歯側の骨面積と比較した抜歯後3日目の骨面積は、1000rad照射群で67%、2000rad照射群で70%で対照群の比率と差が認められたが、減少した骨面積の値では対照群の $0.063\text{mm}^2$ に対して1000rad照射群は $0.062\text{mm}^2$ 、2000rad照射群で $0.070\text{mm}^2$ で著しい差は認められず、有意差検定でも差はみられなかった。

#### 4) 線維芽細胞、骨芽細胞、破骨細胞の大きさの測定結果

線維芽細胞、骨芽細胞、破骨細胞が比較的多くみられる抜歯後2～5日目の頬側根抜歯窩底部および遠心根中隔歯槽骨の顕微鏡写真を作製し、Leitz ASM画像解析装置を用い、各群50～80個の線維芽細胞、骨芽細胞、破骨細胞の面積を測定しその平均値をとった。

測定結果はFig. 25に示すとおりである。

線維芽細胞の大きさは照射群では対照群に比べ小さい値を示していた。線維芽細胞の大きさは、対照群と1000rad照射群の間、および1000rad照

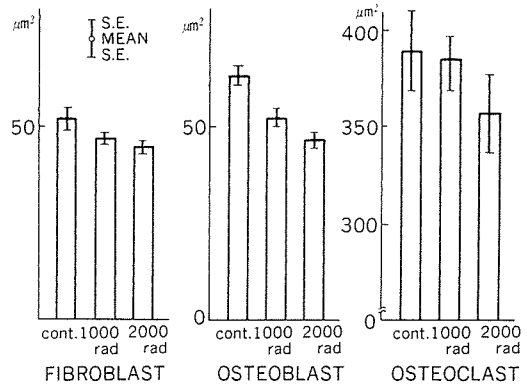


Fig. 25 The size of fibroblast, osteoblast and osteoclast.

射群と2000rad照射群との間に有意な差はみられなかったが、2000rad照射群では対照群に比し有意に小さい値( $p<0.05$ )を示していた。

骨芽細胞の大きさは対照群に比較して照射群の方が有意に小さい値( $p<0.05$ )を示していた。また、2000rad照射群では1000rad照射群に比しても有意に小さい値を示していた。

破骨細胞の大きさは、線維芽細胞や骨芽細胞の大きさと同様に照射群の方が小さい値を示していたが各群間で有意差は認められなかった。

#### 3. 組織化学的所見

組織化学的検索の結果はTable 1～3に示すとおりである。

対照群においては、抜歯直後では抜歯窩内の血餅には活性は認められず、肉芽組織の形成に伴い高いリンゴ酸脱水素酵素活性と、酸フォスファターゼ活性を有する線維芽細胞が認められ、抜歯窩外側の骨膜は抜歯後2日目より各酵素の高い活性

Table 1 The presence of malate dehydrogenase activity

| (Days after extraction)                | Control |       |    | 1000rad |       |    | 2000rad |       |    |
|----------------------------------------|---------|-------|----|---------|-------|----|---------|-------|----|
|                                        | 1-2     | 2.5-3 | 5  | 1-2     | 2.5-3 | 5  | 1-2     | 2.5-3 | 5  |
| Fibroblasts of the granulation tissue  | + ~ ++  |       |    | +       | +     |    | ±       | ± ~ + |    |
| Osteoblasts in the socket              |         | ++    | ++ |         |       | +  |         |       | ±  |
| Osteoclasts of the interradicular bone | ++      | ++    | ++ | ++      | ++    | ++ | ++      | ++    | ++ |
| Osteoblasts of the periosteum          | ±       | ++    | ++ | —       | ± ~ + | +  | —       | —     | —  |
| Osteocytes in the alveolar bone        |         | +     |    |         | ±     |    |         | ±     |    |

(— : Absent, ± : Slight, + : Moderate, ++ : Marked)

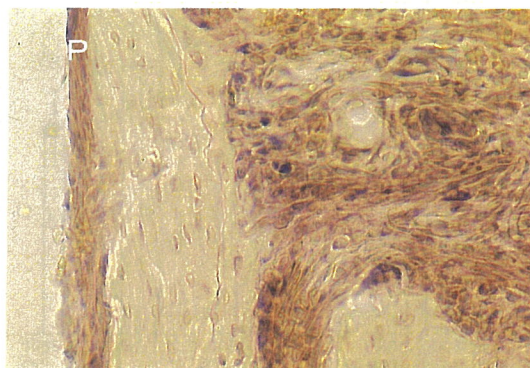


Fig. 26 Control, P. E. 2d.: Malate dehydrogenase. Enzymatic activity is seen in granulation tissue and periosteum (P).  $\times 250$

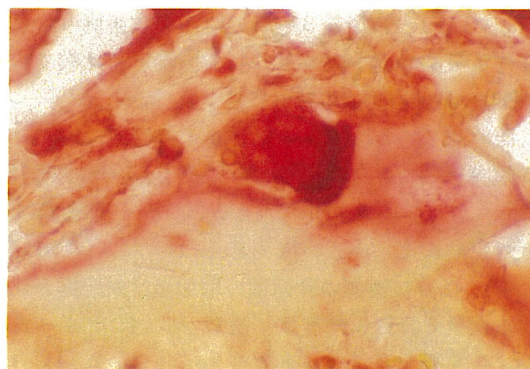


Fig. 27 Control, P. E. 3d.: Acid phosphatase. Osteoclast with high enzymatic activity is seen on bone surface.  $\times 500$

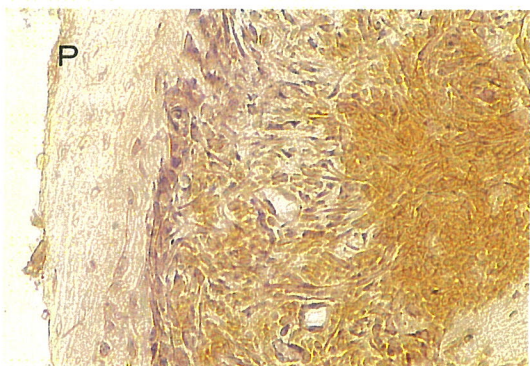


Fig. 28 2000rad, P. E. 2d.: Malate dehydrogenase. Little enzymatic activity is seen in granulation tissue. No enzymatic activity in periosteum (P).  $\times 250$

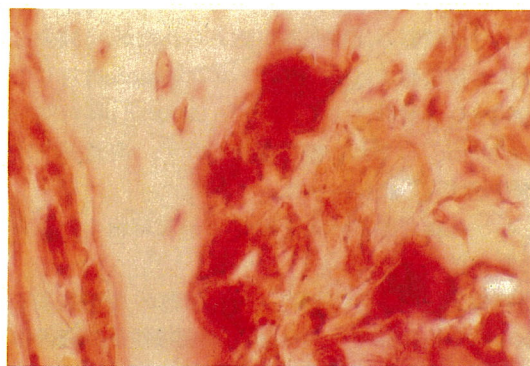


Fig. 29 2000rad, P. E. 3d.: Acid phosphatase. Osteoclasts with high enzymatic activity are seen on bone surface.  $\times 500$

を示していた (Fig. 26)。抜歯後3日目には窩底部新生骨梁に接して各酵素の高い活性を示す骨芽細胞が多数認められた。また破骨細胞は抜歯後2.5日目頃より中隔歯槽骨骨髓腔に多数認められ、

リンゴ酸脱水素酵素および酸フォスファターゼの高い活性を有していた (Fig. 27)。

これに対し照射群では、対照群に比し抜歯窩周囲の歯槽骨の骨細胞にリンゴ酸脱水素酵素と酸フ

Table 2 The presence of acid phosphatase activity

| (Days after extraction)                | Control |       |      | 1000rad |       |    | 2000aad |       |    |
|----------------------------------------|---------|-------|------|---------|-------|----|---------|-------|----|
|                                        | 1-2     | 2.5-3 | 5    | 1-2     | 2.5-3 | 5  | 1-2     | 2.5-3 | 5  |
| Fibroblasts of the glanulation tissue  | +       |       |      | +       | +     |    | ±~+     | ±~+   |    |
| Osteoblasts in the socket              |         | +~++  | +~++ |         |       | +  |         |       | ±  |
| Osteoclasts of the interradicular bone | ++      | ++    | ++   | ++      | ++    | ++ | ++      | ++    | ++ |
| Osteoblasts of the periosteum          | ±       | +~++  | ++   | -       | ±~+   | +  | -       | -     | ±  |
| Osteocytes in the alveolar bone        |         | +     |      |         | ±     |    |         | ±     |    |

Table 3 The presence of alkaline phosphatase activity

| (Days after extraction)               | Control |       |   | 1000rad |       |     | 2000rad |       |   |
|---------------------------------------|---------|-------|---|---------|-------|-----|---------|-------|---|
|                                       | 1-2     | 2.5-3 | 5 | 1-2     | 2.5-3 | 5   | 1-2     | 2.5-3 | 5 |
| Fibroblasts of the granulation tissue | +       |       |   | ±       |       |     | ±       | ±     |   |
| Osteoblasts in the socket             |         | ±     | + |         | ±     | ±~+ |         |       | ± |
| Osteoblasts of the periosteum         | ±       | +     | + | -       | ±     | ±   | -       | -     | - |

オスファターゼの若干の低下が認められ、肉芽組織中の線維芽細胞、抜歯窩内および骨膜の骨芽細胞の数は少なく、酵素活性にも低下がみられた。このような傾向は特に 2000rad 照射群において著明であった (Fig. 28)。また、破骨細胞は抜歯後早期より比較的多数認められ、リンゴ酸脱水素酵素および酸フォスファターゼの高い活性を示していた (Fig. 29)。

#### 4. 電顕的所見

##### 1) 対照群の所見

##### (1) 中隔歯槽骨部の骨吸収

組織学的観察によると、抜歯窩の骨新生に先立ち、抜歯後 2~3 日目の中隔歯槽骨部には多数の

破骨細胞が認められた。

電顕的にも、中隔歯槽骨部には大型の破骨細胞が多数みられた。破骨細胞の骨に面した細胞質は複雑に入り組んだ ruffled border を示していた (Fig. 30)。Ruffled border の形や大きさは、破骨細胞の大きさや骨吸収の活性の大小によっても、また同一の細胞でも部位によって異なることがあったが、一般に、活発な骨吸収をしていると思われる大きな破骨細胞では、ruffled border は良く発達しており、細胞の広い部分に分布し、その幅も約 6~7  $\mu\text{m}$  と広く複雑に入り組んだ形態を示していた。Ruffled border と隣接して細胞小器官が欠如し、骨に密着する部分もみられた。こ

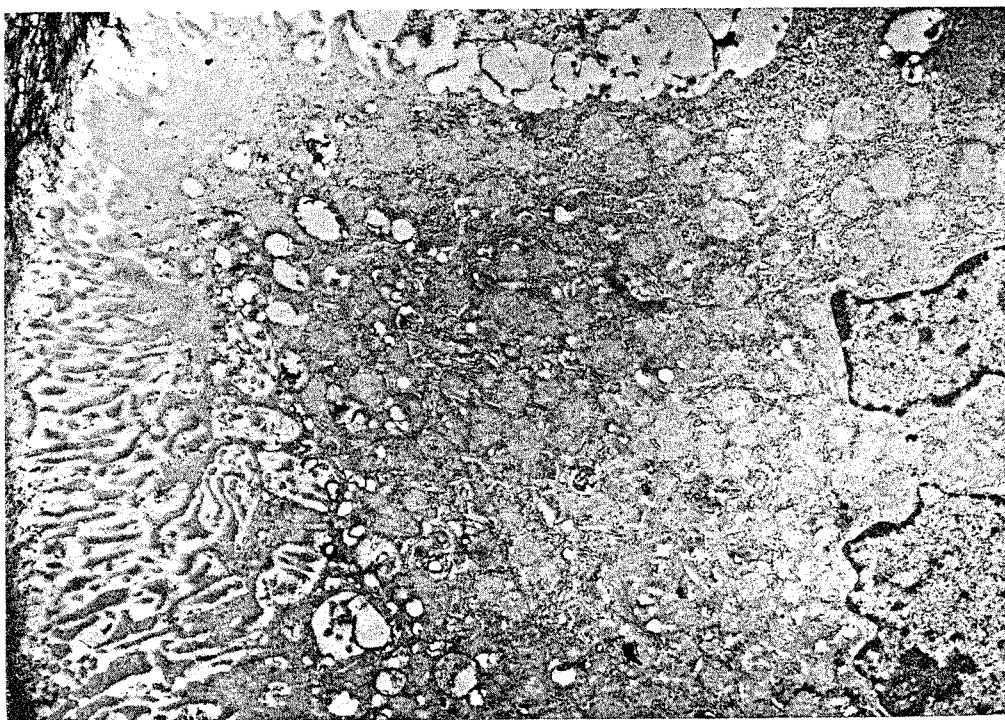


Fig. 30 Control: Active osteoclast with well-developed ruffled border and numerous mitochondria. UA & LC  $\times 5600$

のような部分では細胞質突起はみられず骨表面の形態に一致し平坦であった。

破骨細胞は多核の細胞で、3～5個の核が認められたが、細胞質に対して核の占める割合は小さかった。破骨細胞の核は類円形のものが多く、辺縁不整で切れ込みのみられるものもあった。核質は核辺縁部に偏在し、淡明のものが多かった。

破骨細胞の細胞質中には多くのミトコンドリアが認められた (Fig. 30)。ミトコンドリアは類円形～楕円形で破骨細胞の細胞質中に広く分布していたが、ruffled border 部とこれに隣接し骨に密着した部位の細胞質中には認められなかった。大型で活発に骨を吸収していると思われる ruffled border の良く発達した破骨細胞ほどミトコンドリアは多く認められた。粗面小胞体はミトコンドリアに比べて少なく、その多くはミトコンドリアの間に散在性に認められた。粗面小胞体は層状構造を示さずミトコンドリアに圧平された状態で認められ、拡張はほとんどみられなかった。

Golgi 装置は核の周囲に比較的多く認められた。Golgi 装置は数層の層板構造を示し、辺縁部には多数の Golgi 小胞がみられた。

遊離リボゾームは細胞質中に広く分布していたが、骨と反対側の細胞質中に多くみられ、集合しているものも認められた。Ruffled border があまり発達していない小型の破骨細胞では遊離リボゾームが多くみられた。

Ruffled border に隣接する細胞質中には大小の空胞が多数認められた。空胞内部の空虚なもの、微細な骨結晶様構造物を含むもの、あるいは不定型の物質を含むものなど種々認められた。また、変性した細胞あるいはその断片を含むものもみられた。

核と ruffled border との間の細胞質中に電子密度の高い小体がみられた。その形態は多様で、電子密度が高く小さいもの、やや大きく顆粒状の構造を示すものなどがみられた。

Ruffled border に面する骨質表層には遊離した

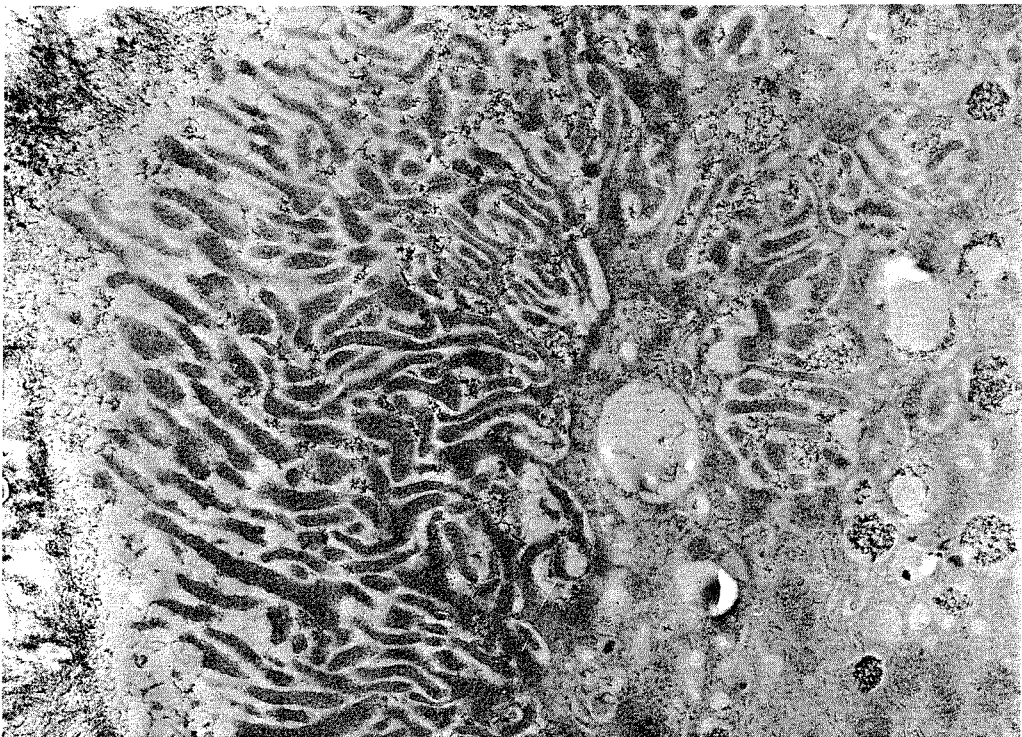


Fig. 31 Control: Well-developed ruffled border and underlying bone matrix. Freed bone crystal-line like material between projections of the ruffled border and in intracytoplasmic vacuoles. LC  $\times 11600$

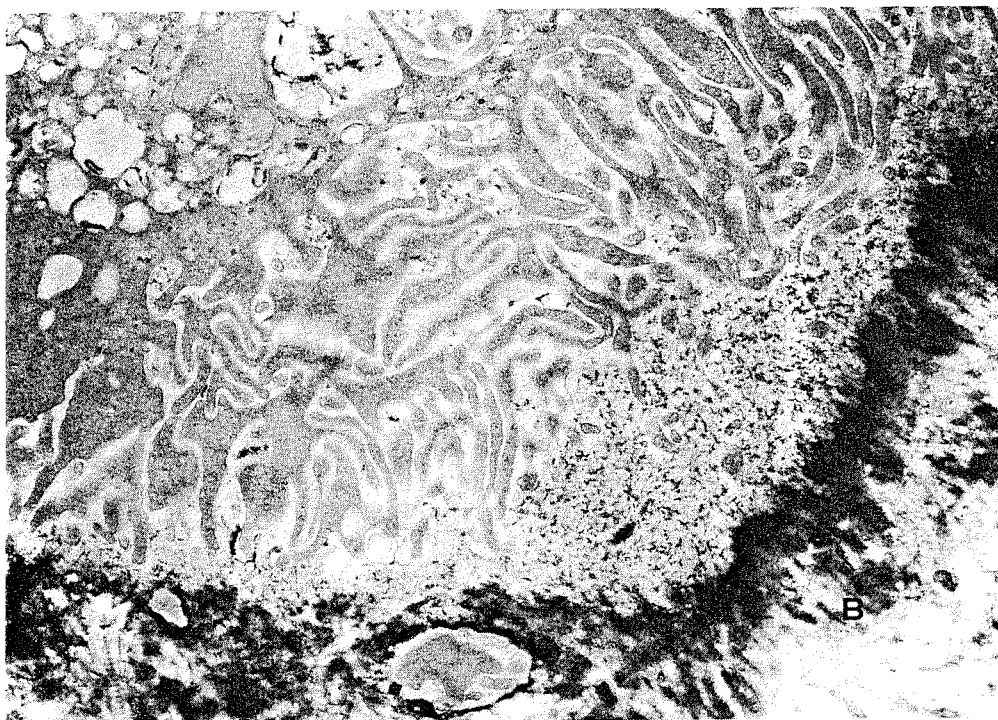


Fig. 32 Control: Bone matrix underlying well-developed ruffled border showing phosphotungstic acid (PTA) positive fibrillar structure. B: Bone tissue. PTA $\times$ 12500



Fig. 33 Control: Active osteoblast at the bottom in socket. B: Bone tissue. PTA $\times$ 4800

骨結晶様構造物がみられ、これらの骨結晶様構造物は ruffled border の突起間や隣接する細胞質中の空胞内にも多数認められた (Fig. 31)。Ruffled border の発達に伴い ruffled border 直下の骨質の疎鬆化の傾向は強くなり、突起間にも微細な骨結晶様構造物が認められた。

Ruffled border 直下の骨の表層は、クエン酸鉛染色では、遊離した骨結晶が集合した層より成っていた。その下層の骨質は層状に疎鬆化し、更に下方には緻密な骨質が認められた。

燐タングステン酸染色では、ruffled border の間や骨表層の遊離した骨結晶は、脱灰されほとんど認められないが、クエン酸鉛染色で鬆疎な骨層としてみられた層は燐タングステン酸に濃染する層として認められた (Fig. 32)。その下方の骨質は膠原線維が方向性をもって配列した緻密な構造を示していた。

## (2) 抜歯窩底部の骨新生

抜歯窩底部の骨新生部では窩底部骨組織に近接して、紡錘形ないし多角形で、不規則な細胞突起を

もつ比較的大型の骨芽細胞がみられた (Fig. 33)。

骨芽細胞の核は類円形、比較的大型で多角形の骨芽細胞では類骨組織と反対側に、また紡錘形の骨芽細胞では細胞の長軸の片側に偏在する傾向を示していた。核質は核の周辺部に凝集するものが多くみられた。

粗面小胞体は骨芽細胞の細胞質中の広い範囲に分布しており、層板状構造を示すものが多いが、一部では拡張している像も認められた。粗面小胞体の量は活発に類骨組織を新生していると思われる細胞ほど多く、基質産生能に関連していることがうかがわれた。

遊離リボゾームは細胞質の辺縁部にわずかにみられるにすぎなかったが、新生骨から離れた細胞には多く認められた。

Golgi 装置は核に近接した細胞質中に認められた (Fig. 34)、一般的に数層の明瞭な Golgi 層板より成り、辺縁部には多数の Golgi 小胞が認められた。Golgi 装置の量も、粗面小胞体と同様に、活発に類骨組織を新生していると思われる細胞ほど

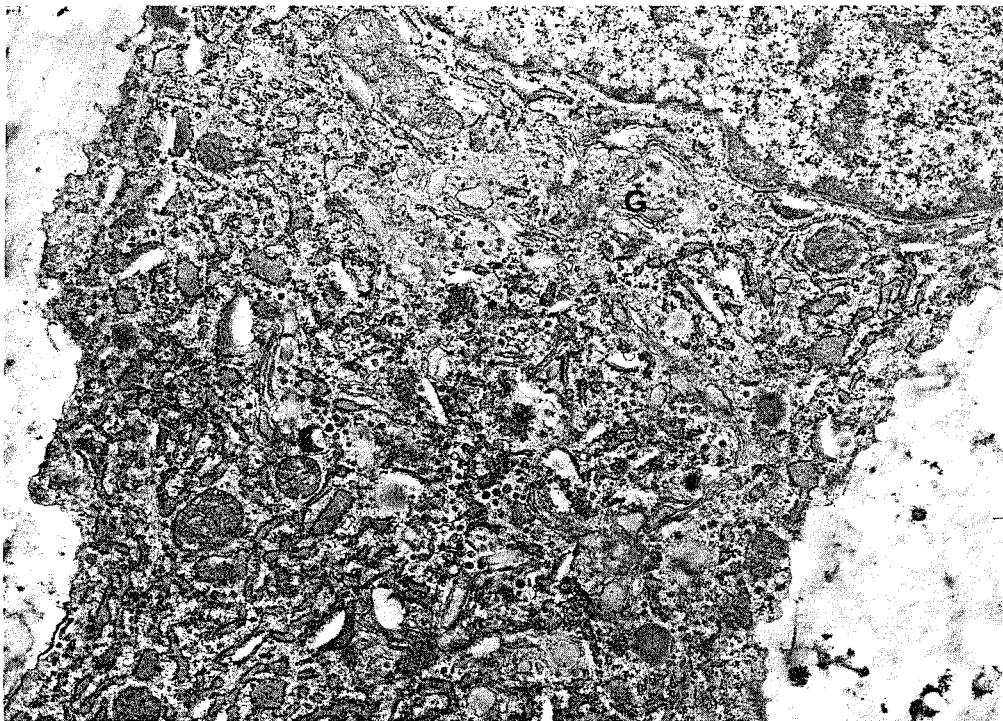


Fig. 34 Control: Active osteoblast with well-developed Golgi apparatus (G). UA & LC  $\times 12700$

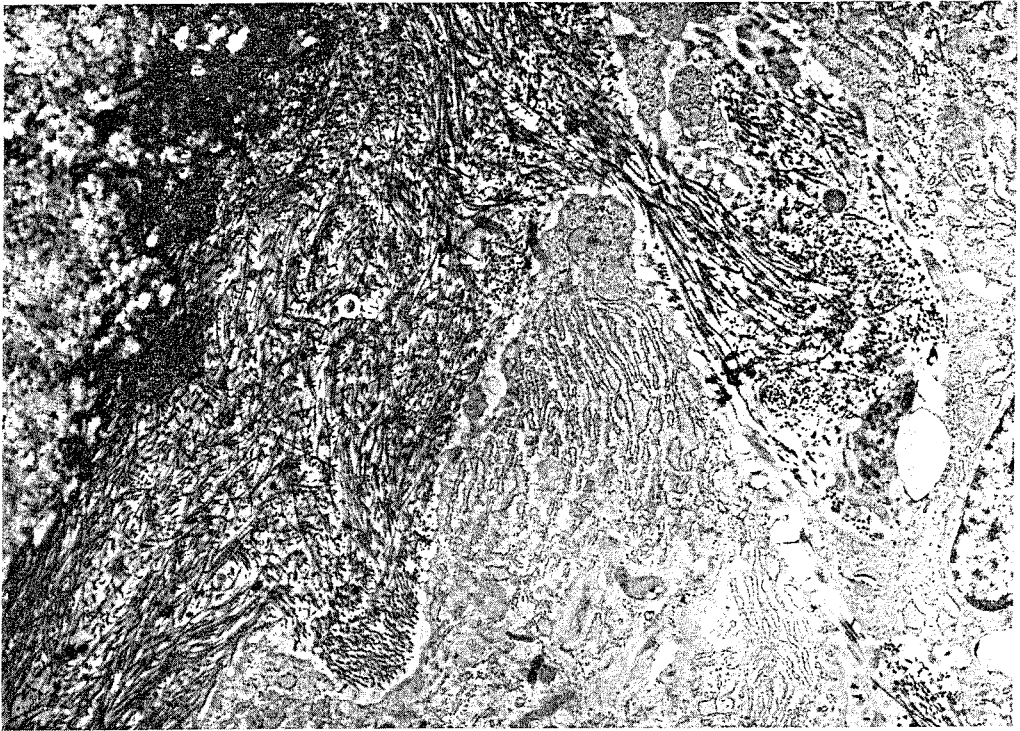


Fig. 35 Control: Abundant osteoid (Os) including rich PTA-positive collagen fibrils is seen around osteoblast. PTA  $\times 6000$

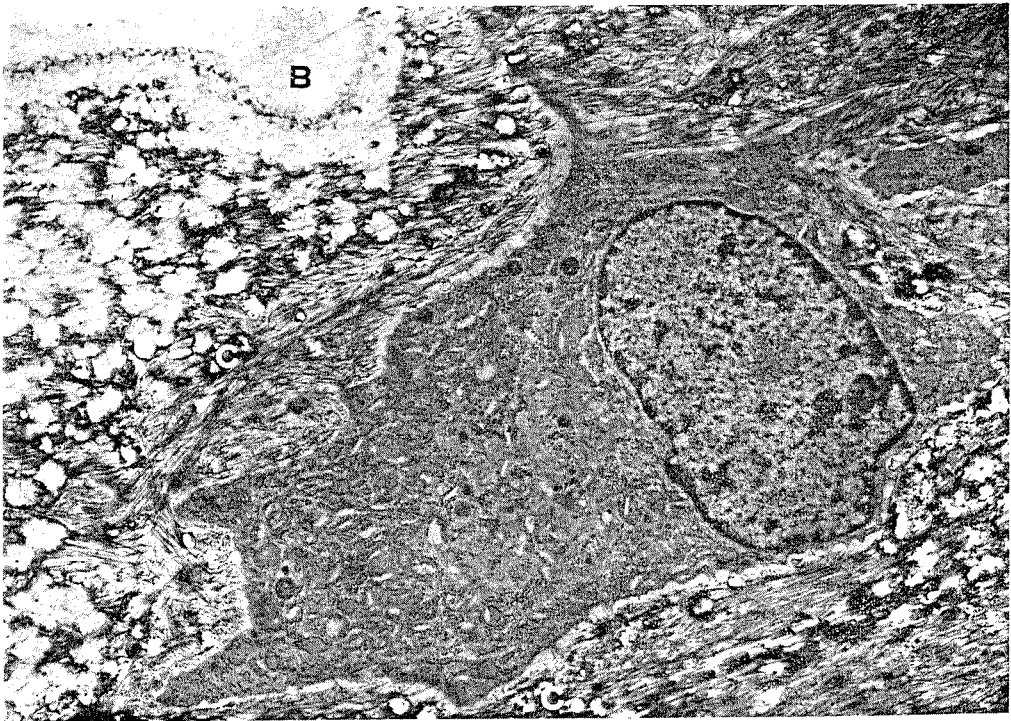


Fig. 36 Control: Osteoid-osteocyte; mottled calcification (C) is seen in osteoid. B: Bone tissue PTA  $\times 5100$

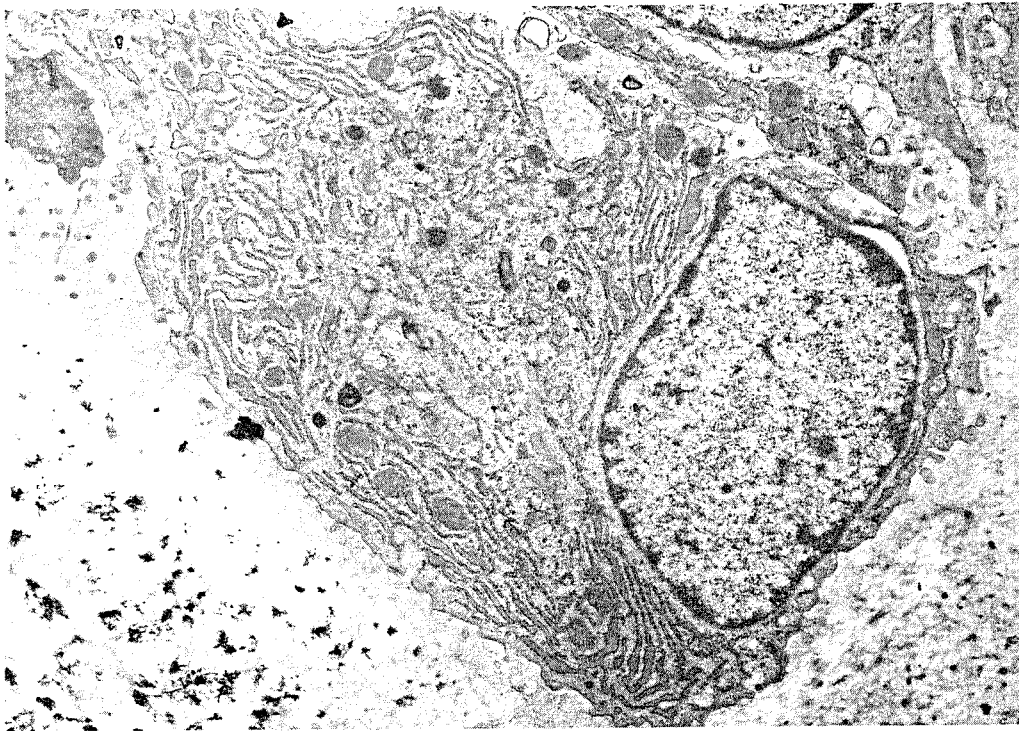


Fig. 37 Control: Periosteal osteoblast with well-developed Golgi apparatus and RER. Abundant osteoid is seen around the osteoblast. UA & LC  $\times 7800$

良く発達していた。

ミトコンドリアは類円形ないし楕円形で比較的大きく明瞭なクリスタを有し、粗面小胞体の層板間や Golgi 装置に近接して認められた。

新生骨梁と骨芽細胞の間には、多量の類骨組織がみられた。類骨組織は燐タングステン酸で染色した標本では、密に錯走した多数の膠原小線維を含んでいた (Fig. 35)。類骨組織には多数の針状結晶の集合した石灰化巣も認められた。

また、周囲をほとんど新生骨でとり囲まれた骨細胞もみられた (Fig. 36)。骨細胞と新生骨との間には比較的多量の類骨組織が認められ、斑点状の石灰化巣もみられた。このような骨細胞は、骨芽細胞と比較して細胞小器官の減少を示していたが、粗面小胞体や Golgi 装置は比較的多く、基本的には骨芽細胞に類似した微細構造を示していた。

### (3) 抜歯窩外側の骨膜性骨新生

抜歯窩外側の骨膜性骨新生部においても抜歯窩底部の骨新生部と同様に骨芽細胞による活発な骨

新生が認められた。骨膜性骨新生部の骨芽細胞は、抜歯窩底部の骨新生部にみられた骨芽細胞と基本的には類似の微細構造を示していたが、新生骨に沿って並列する傾向を示し、比較的大型で、良く発達した細胞小器官を有するものが多くみられた。

骨芽細胞の胞体内には層板状構造を示す粗面小胞体と良く発達した Golgi 装置がみられ、細胞周囲には多量の類骨組織が認められた (Fig. 37)。類骨組織は燐タングステン酸染色では密に錯走した膠原小線維と絮状の基質より成っていたが、抜歯窩底部に比較して、類骨組織の量は多く、含まれている膠原線維の密度は高い傾向を示していた。

活発な骨新生に伴い周囲を多量の類骨組織で囲まれた比較的細胞小器官の豊富な大型の骨細胞も認められた。

### 2) 1000rad 照射群の所見

#### (1) 中隔歯槽骨部の骨吸収

1000rad 照射群の破骨細胞は対照群に比しやや

小型で、ruffled border の発達は不良であった。

1000rad 照射群の場合、ruffled border が比較的良く発達した破骨細胞でも、対照群に比し ruffled border の占める領域は少なく、幅も狭く、ruffled border の突起間の空隙も狭い傾向を示していた。

1000rad 照射群の破骨細胞も多核で、核は類円形のもの、多角形で切れ込みのあるものなど多様であった。核質は減少し核内に分散する傾向を示しており、対照群に比してより淡明であった。

ミトコンドリアは 1000rad 照射群の破骨細胞でも最も目立つ細胞小器官であったが、その数は対照群に比し少なく小型であった (Fig. 38)。

粗面小胞体はミトコンドリアの間に散在性に認められたが、対照群に比し少なく、多数の遊離リボゾームがみられた。

Golgi 装置も核の周囲にわずかに認められる程度でその多くは明瞭な層板状構造を示さず、小胞状を呈していた。

Ruffled border に隣接する細胞質中には大小の空胞が認められた。空胞は、内部に不定型の物

質、骨結晶様構造物などを含むものなどみられたが、対照群に比べ空虚なものが多くみられた。空胞内に骨結晶様構造物を含むものでも、対照群と異なり、その多くは集塊状を呈していた (Fig. 38)。また、核に近接して大小の空胞がみられ、集塊状の骨結晶様構造物を含む比較的大型の空胞も認められた。

1000rad 照射群の場合も ruffled border に面する骨質は対照群と基本的には類似した微細構造的変化を示していたが、その程度と形態には相違が認められた。

Ruffled border は骨表層に近接しており、ruffled border に面する骨表層部における骨結晶の遊離の傾向は少なく、また、ruffled border の突起間にみられた骨結晶様構造は集塊状を呈していた。

## (2) 抜歯窩底部の骨新生

1000rad 照射群の場合、抜歯窩底部の骨新生部にみられた骨芽細胞は種々な程度の微細構造的変化を示していた。

1000rad 照射群の骨芽細胞は対照群に比し、や

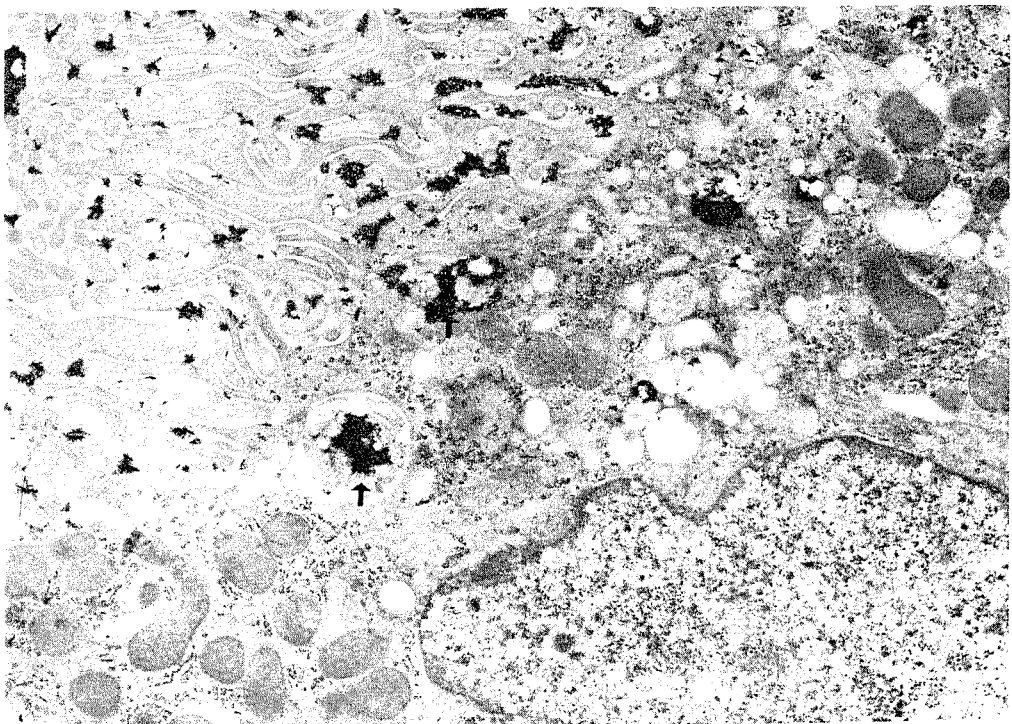


Fig. 38 1000rad: Osteoclast with fewer mitochondria than control. Aggregated crystalline like material in vacuoles (arrow). UA & LC  $\times 10000$

や小型で細胞質突起は少なく細胞外形は比較的平滑であった。

骨芽細胞の核は類円形ないし楕円形で、核質は減少し、淡明なものも多く、胞体内に偏在する傾向は少なかった。

粗面小胞体は 1000rad 照射群においても、最も目立つ細胞内小器官であり、細胞質の広い部分に分布していた。しかしその量は対照群に比し少なく、層板状構造を示すものの不規則な拡張がみられるものが多く、小胞構造が不明瞭なものも認められた (Fig. 39)。

遊離リボゾームは細胞質辺縁部に多くみられ、その量は対照群に比しやや多かった。

Golgi 装置は核に近接した細胞質中に認められたが、対照群に比し少なく、明瞭な層板状構造はみられず、その多くは小胞状を呈し不規則に拡張していた (Fig. 39)。

ミトコンドリアは胞体内に散在性に認められたが、細長いもの、小円形のもの等、外形は不規則であり、クリスタが消失したミトコンドリアも多

くみられた。

1000rad 照射群では、粗面小胞体、Golgi 装置などの細胞小器官の微細構造的変化に伴い、骨芽細胞周囲の類骨組織にも種々の程度の変化が認められた。

類骨組織の量は全般的に少なく、燐タングステン酸染色標本では膠原小線維の密度は低く、石灰化巣も散在性に認められるにすぎなかった。

### (3) 抜歯窩外側の骨膜性骨新生

1000rad 照射群において抜歯窩外側の骨膜性の骨新生部にみられた骨芽細胞は、対照群と比較して数は少なく、抜歯窩底部の骨新生部にみられた骨芽細胞と基本的には類似した微細構造的変化を示していた。

骨芽細胞は紡錘形、類円形、多角形など様々な形態を示していた。全般的に核は類骨組織に対し反対側の細胞質内に偏在する傾向を示していた。1000rad 照射群の場合、骨芽細胞の核は核質が減少し淡明なもの、あるいは核質が核内に凝集したものなどがみられた。

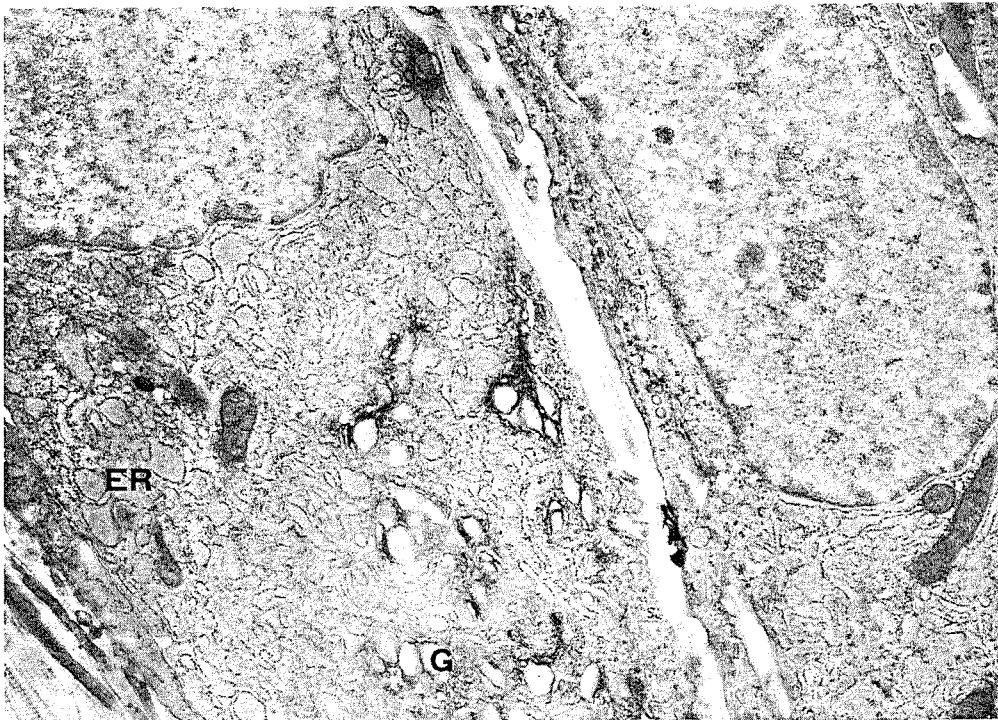


Fig. 39 1000rad : Osteoblast at the bottom in socket. Fewer RER (ER) and Golgi apparatus (G) than control. UA & LC×11000

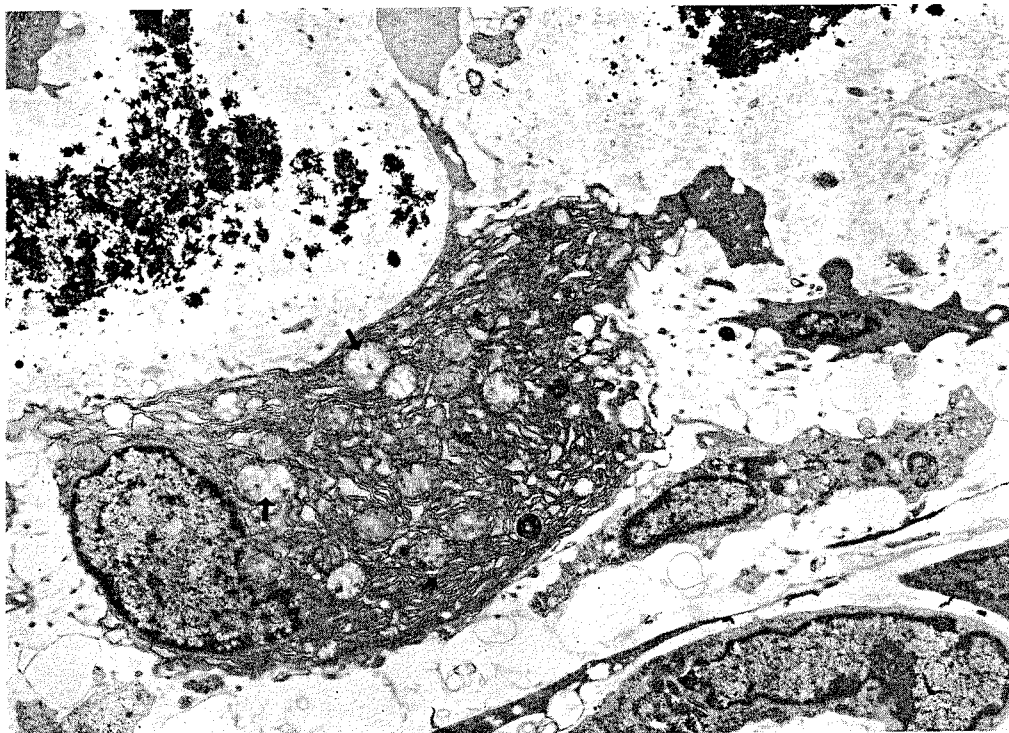


Fig. 40 1000rad: Periosteal osteoblast with dilated RER. Mitochondria with sparse cristae (arrow).  
UA & LC×4800

1000rad 照射群の骨芽細胞においても、粗面小胞体は細胞質内に広範にみられたが、対照群に比してその量はやや少なかった。粗面小胞体の多くは層状構造を示していたが、不規則な拡張を示すものや、小胞状を示すものも認められた (Fig. 40)。

1000rad 照射群の場合、骨芽細胞の細胞辺縁部に比較的多数の遊離リボゾームが認められた。

Golgi 装置は対照群に比し発達は不良で、明瞭な層板構造を示すものは少なく、不規則に拡張し小胞状を呈するものが多くみられた。

ミトコンドリアは粗面小胞体の間に認められたが、対照群に比してその数は少なく、形態も類円形を示すものが多かったが、細長いもの、くびれたものなど、変形したミトコンドリアも多く認められた。またクリスタの構造が不明瞭となり、消失しているものもみられた (Fig. 40)。

このような細胞のなかには、細胞境界が不明瞭な、変性を示す骨芽細胞も認められた (Fig. 40)。

細胞周囲の類骨組織は対照群に比して少なかっ

た。燐タングステン酸染色では類骨組織中の膠原小線維の量は少なく、その密度も減少していた (Fig. 41)。針状の石灰化巣も散在性に認められたが、その量は対照群に比し少なかった。

### 3) 2000rad 照射群の所見

#### (1) 中隔歯槽骨部の骨吸収

2000rad 照射群の場合、中隔歯槽骨に接して多数の破骨細胞がみられたが、対照群に比しやや小型で、ruffled border も著しい差異を示していた (Fig. 42)。

2000rad 照射群の破骨細胞の ruffled border は全般的に発達は不良で、ほとんど ruffled border の突起がみられず骨に密着した破骨細胞も認められた。Ruffled border が比較的良好に発達した破骨細胞においても、対照群に比し ruffled border の占める領域は少なく、また、指状突起が短く、突起間の空隙は狭かった (Fig. 43)。

2000rad 照射群の破骨細胞の核は 1000rad 照射群の破骨細胞と同様に、核質が減少し淡明なもの (Fig. 44)、あるいは核質が核内に凝集したもの

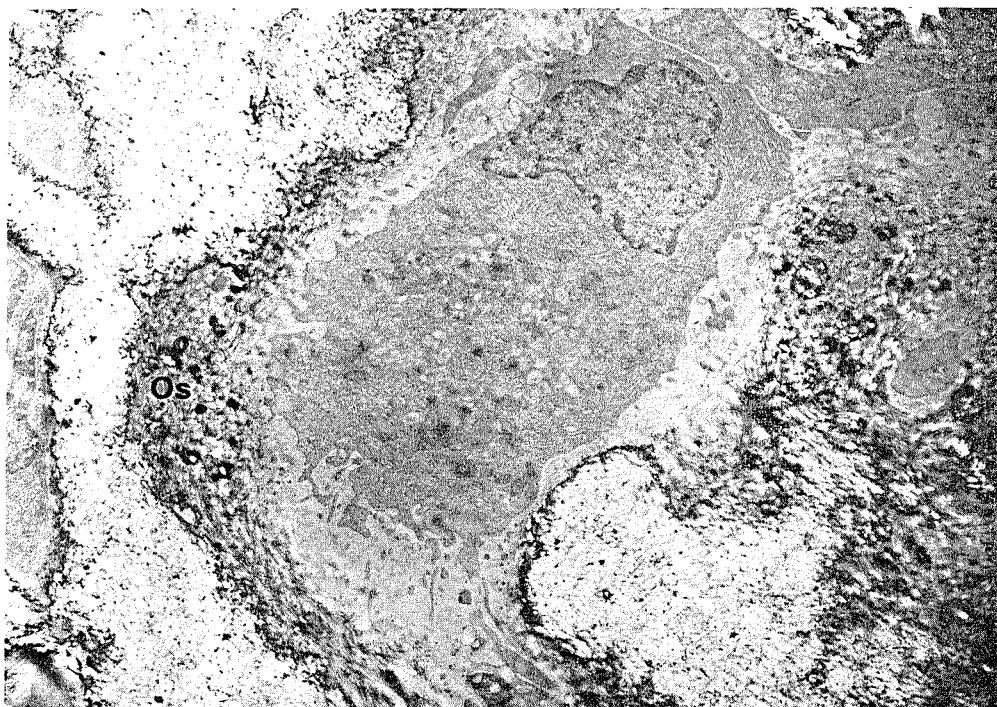


Fig. 41 1000rad: Periosteal osteoblast showing poor osteoid formation (Os). PTA  $\times 4900$

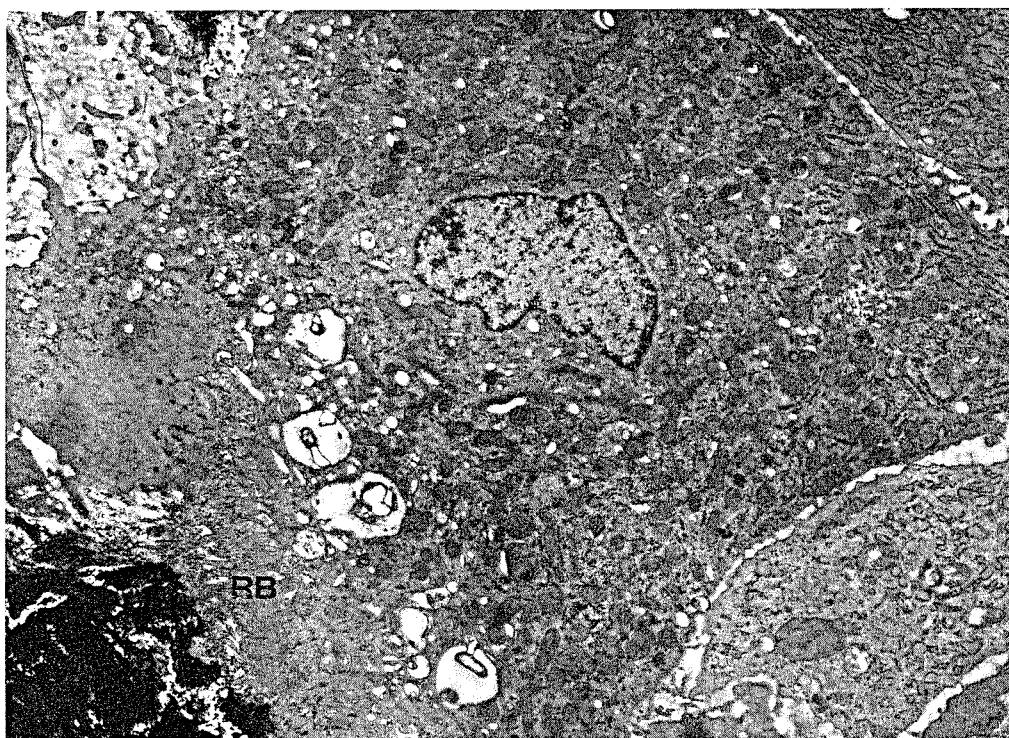


Fig. 42 2000rad: Relatively small osteoclast with poorly developed ruffled border (RB). UA & LC  $\times 5000$

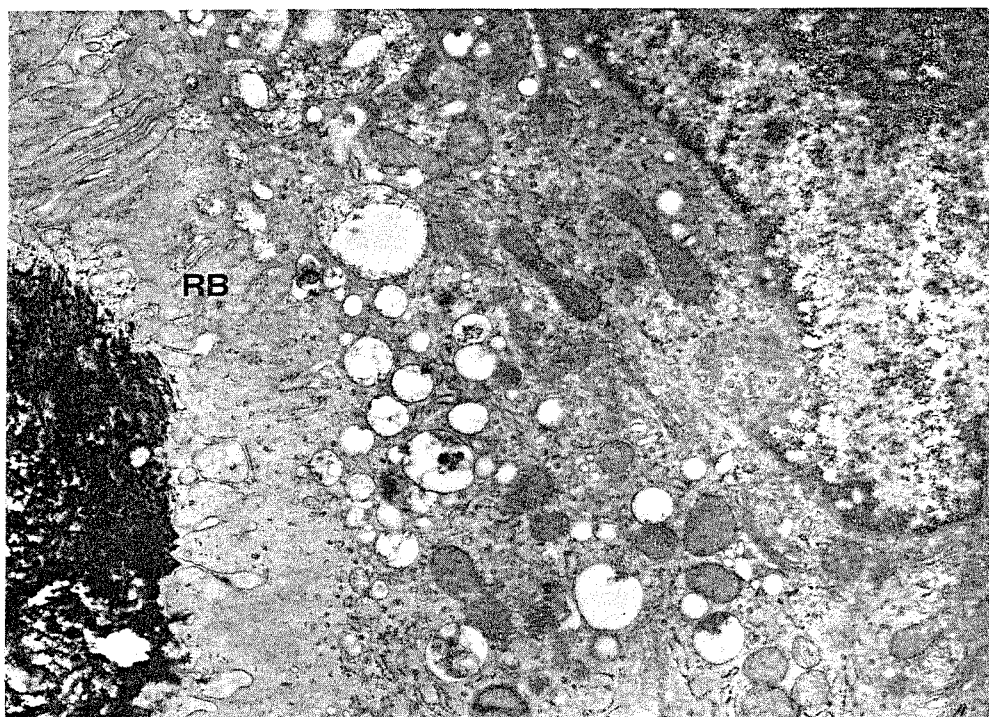


Fig. 43 2000rad: Ruffled border (RB) composed of thick and short projections. Bone matrix under the ruffled border showing less loose structure. UA & LC  $\times 11000$

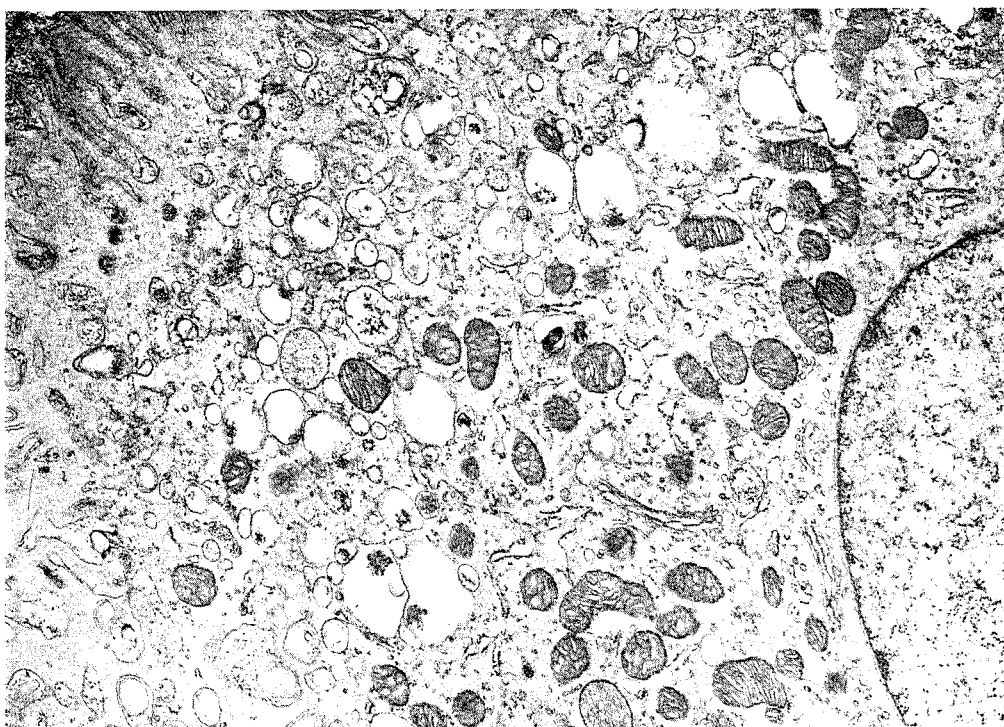


Fig. 44 2000rad: Osteoclast with fewer mitochondria than control. Nucleus of osteoclast showing dispersed chromatin. UA & LC  $\times 12000$

などが認められた。核の細胞質に占める割合は対照群に比べ大きい傾向を示していた。

ミトコンドリアは2000rad照射群の破骨細胞においても顕著な細胞小器官であったが、その数は対照群に比し著しく少なく小型であった (Figs. 42, 44)。ミトコンドリアの形態は類円形～楕円形のものが多かったが、細長いものやくびれを持つものなど変形したものも認められた。クリスタが不明瞭となり消失しているものもみられた。

粗面小胞体は対照群に比し少なく、一部では不規則な拡張を示すものも認められた。遊離リボソームは比較的多く、細胞質の広い範囲に認められた。

Golgi 装置は核の周囲にみられるものの、対照群に比し少なく、明瞭な層板構造を示すものは少なく小胞状を呈するものが多く認められた。

Ruffled border に隣接する細胞質中には大小多数の空胞が認められたが、対照群に比べ骨結晶様構造物を含んでいるものは少なく (Figs. 43, 44), 骨結晶様構造物がみられる空胞でも、小塊状、小

粒子状を呈していた。また、空胞内に不定型物質や、ミエリン様構造物を含む空胞も多く認められた。骨細胞と思われる変性した細胞を含む大きな空胞もみられた。

Ruffled border は骨質表層に密着する傾向を示し、ruffled border 直下の骨質は遊離の傾向は少なく、ruffled border の突起間にみられる遊離した骨結晶も対照群に比し著しく少なく、わずかにみられる骨結晶も集塊状、小粒子状であった (Fig. 43)。クエン酸鉛で染色した標本においても、ruffled border 直下の骨質の疎鬆化の傾向は少なく、その下層の骨質の疎鬆化の程度も軽度であった。燐タングステン酸染色標本ではruffled border は PTA 濃染層と密着しており、PTA 濃染層の幅は対照群に比し狭い傾向を示していた。

## (2) 抜歯窩底部の骨新生

2000rad 照射群の場合、抜歯窩底部の骨新生部にみられた骨芽細胞は1000rad照射群と同様に種々の程度の微細構造的変化を示していたが、その程度は1000rad照射群に比して著明であった。

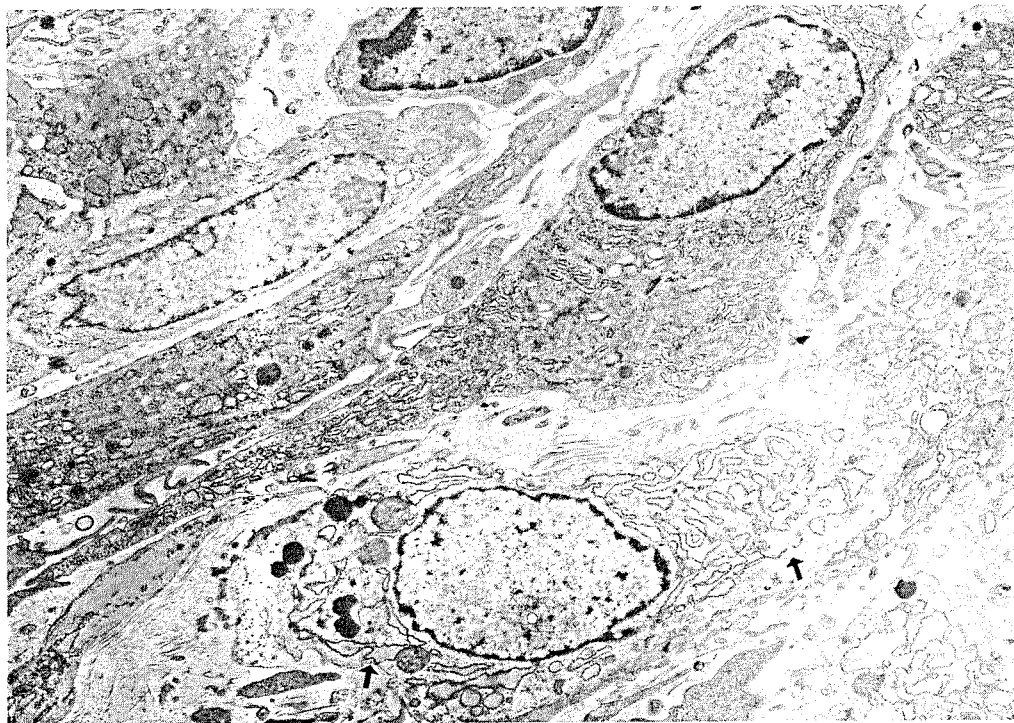


Fig. 45 2000rad: Osteoblast at the bottom in socket. RER (arrow) showing irregular dilation. UA & LC ×5200

2000rad 照射群の骨芽細胞は対照群に比し小さく、細胞質突起は少なく、外形が比較的平滑なものが多くみられた (Fig. 45)。

骨芽細胞の核は類骨組織の反対側の細胞質内に偏在する傾向を示していた。2000rad 照射群では、核質が減少し核内に分散し淡明なものや、核質が核内に凝集したものも認められた。

骨芽細胞の胞体内には粗面小胞体が豊富にみられるものの、その量は対照群に比し少なく、その多くは層板状の配列が乱れ不規則な拡張を示していた (Fig. 45)。

遊離リボゾームの量は対照群に比し多く、細胞内に一様に分布していた。一部では遊離リボゾームが集合している部分も認められた。

Golgi 装置は核に近接して認められたが、明瞭な層状構造はみられず、著しく拡張したものや小胞状を示すものが多く認められた (Fig. 46)。

ミトコンドリアは胞体内に散在性に認められたが、対照群に比べ小型で数も少なく、クリスタの消失や、濃縮など種々の程度の変化を示していた

(Fig. 46)。

2000rad 照射群の場合、細胞周囲の類骨組織は著しく減少していた (Fig. 47)。燐タングステン酸染色では、わずかにみられた類骨組織中の膠原小線維は密度も低く鬆疎であった。石灰化巣は散在性に認められたが、対照群に比べその数は少なかった。

### (3) 抜歯窩外側の骨膜性骨新生

組織学的検索では、2000rad 照射群においては抜歯窩外側の骨膜性骨新生はほとんど認められなかったが、電顕的にも 2000rad 照射群の場合、骨膜部の骨芽細胞は対照群および 1000rad 照射群に比し著しく少なく、わずかにみられた骨芽細胞は著明な微細構造的変化を示していた。

2000rad 照射群では、骨芽細胞の増殖はほとんどみられず、骨質に沿って細長い骨芽細胞が並列していた (Fig. 48)。

骨芽細胞は対照群に比べ小さいものが多く、細胞質突起をもつものは少なく、外形は比較的平滑であった。多角形、類円形の骨芽細胞もみられた

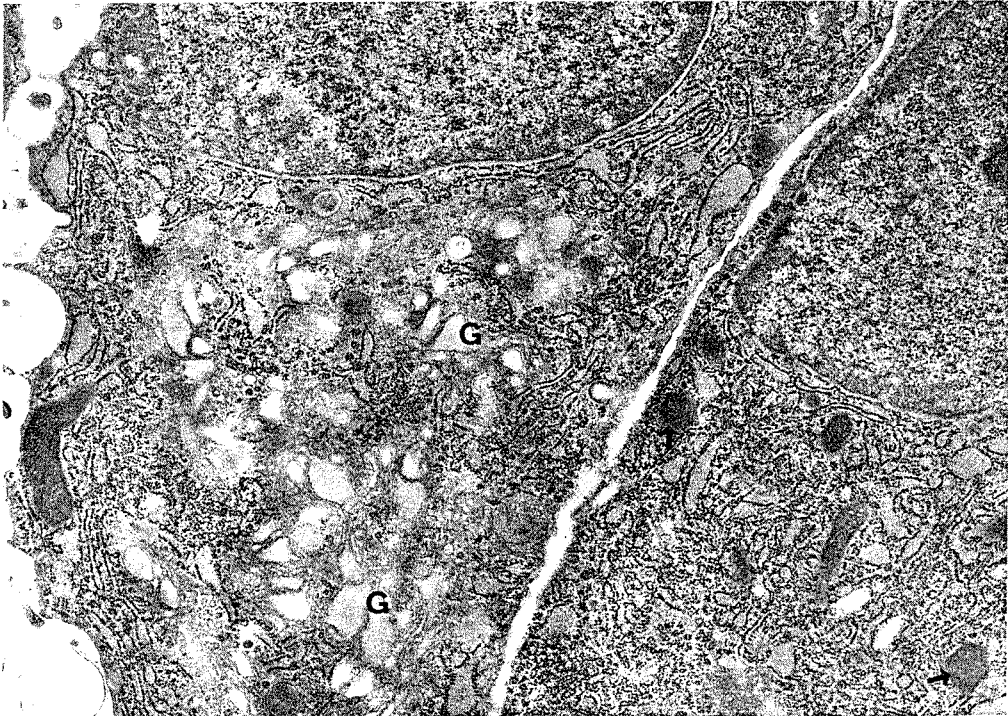


Fig. 46 2000rad: Osteoblast; Golgi apparatus (G) adjacent to nucleus. Golgi saccules are dilated. Condensed mitochondria (arrow). UA & LC  $\times 13000$

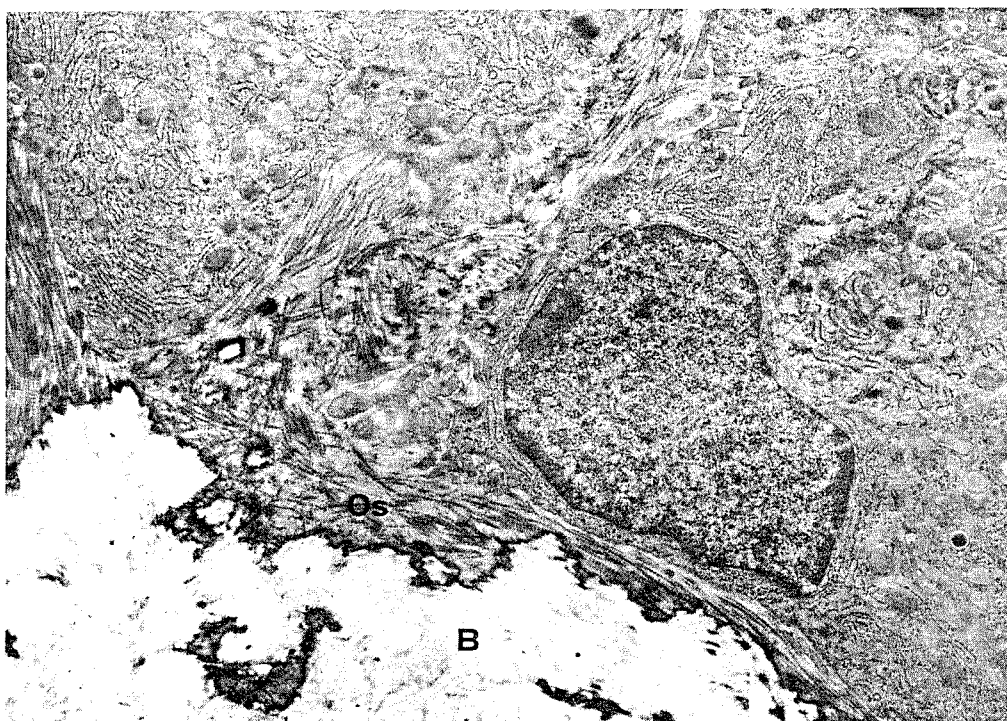


Fig. 47 2000rad : Reduced osteoid formation. The density of collagen fibrils is lower than control.  
Os : Osteoid, B : Bone tissue. PTA  $\times 8100$

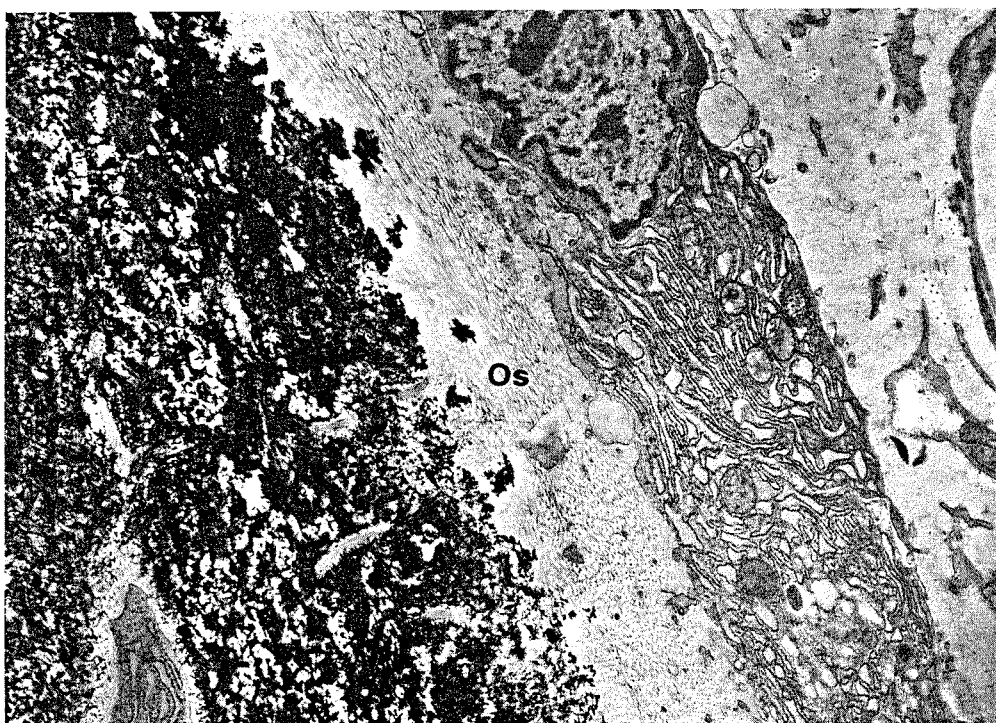


Fig. 48 2000 rad : Periosteal osteoblast ; RER showing irregular dilation. Osteoid (Os) formation is markedly reduced. UA & LC  $\times 7900$

が、扁平で紡錘形の骨芽細胞が多く認められた。

骨芽細胞の核は偏在性を示すものは少なく、細胞質に対する核の占める割合は対照群に比べ大きい傾向を示していた。核質が減少し淡明な核もみられたが、核質が核内に斑点状に凝集したものや核膜に沿って不規則に凝集したものも認められた。

2000rad 照射群の骨芽細胞でも、粗面小胞体は、細胞質の広い部分に分布していたが、その密度は対照群に比し著しく減少しており、その多くは不規則な拡張を示していた (Fig. 48)。遊離リボゾームも細胞質中に広く分布しており、一部で集合している部分もみられた。

核に隣接した細胞質中には Golgi 装置がみられたが、対照群に比較し少なく、層状構造を示すものも認められたが、不規則な拡張を示し、小胞状を呈するものもみられた。

ミトコンドリアは粗面小胞体の間に散在性にみられたが、その数は少なく、外形も類円形、楕円形、細長くくびれを持つものなど不整であった。クリスタが不明瞭となり消失しているミトコンドリアも認められた。

また、胞体内に電子密度の高い内容物を含む小体を持つ骨芽細胞も認められた。

骨膜性骨新生部の類骨組織は対照群に比し著しく少なく、骨辺縁部にみられるのみであった (Fig. 48)。隣タングステン酸染色では類骨組織中の膠原小線維の密度は低く鬆疎で、石灰化巣も少なく散在性にわずかに認められるにすぎなかった。

骨膜性骨新生部に隣接する骨質中にみられた骨細胞は細胞質突起が少なく外形は比較的平滑であった。骨細胞の多くは骨芽細胞と基本的には同様の微細構造的変化を示していた。

骨細胞の核は核質の減少あるいは核質の不規則な凝集を示しており、また、対照群の骨細胞と比べ、粗面小胞体、Golgi 装置、ミトコンドリアなどの細胞小器官は少なかった。

## 考 察

顎骨の放射線障害に関する研究は 1922 年 Regaud<sup>16)</sup> が臨床的に口腔癌に随伴した ostéo-radio-

nécrose を初めて報告して以来、臨床的<sup>7-13)</sup>、ならびに実験的<sup>17-21)</sup>に数多くの研究がなされている。それらの研究では顎骨の放射線障害の原因として、骨の細胞成分への放射線の直接的影響、および照射野内の血管障害などが考えられており、さらに唾液腺、粘膜、歯周組織の障害に基づく感染、咬合性外傷や抜歯などの外傷が放射線障害をより重篤にすると述べられている。

なかでも、抜歯と放射線骨壊死との関連については特に関心がもたれ、顎骨の放射線障害に及ぼす抜歯の影響については多くの臨床的<sup>22-24)</sup>、ならびに実験的<sup>24-31)</sup>研究がなされている。Frandsen<sup>27)</sup> はラットを用いた実験的研究において、照射の前後に抜歯を行い照射後抜歯群では照射前抜歯群と比べ radio-osteomyelitis の発現頻度が高いことを報告している。また藤下<sup>24)</sup> は、口腔癌の放射線治療を受けた患者を対象とした臨床的研究において、radiation osteitis の誘因として照射後の抜歯が多い事を示し、また、ラットを用いた実験的研究において、照射の前後に抜歯を行い照射前抜歯群と照射後抜歯群を比較検討し、照射後抜歯群の方が radiation osteitis の発現頻度が高いことを報告している。

これらの研究により、照射後の抜歯は治癒過程を障害し易く、放射線骨壊死の誘因となり得ることが明らかになったが、その多くは放射線骨壊死との関連を検索したものであり、照射後抜歯をした場合に、その抜歯創の治癒過程を詳細に検索したものは少なく、わずかに Frandsen<sup>27)</sup>、Horn<sup>30)</sup>、および清水<sup>31)</sup>の報告がみられるにすぎない。それらの研究によると照射群では、肉芽組織の形成不良、上皮被覆の遅延、骨新生の遅延、著明な骨吸収などが観察され、これらが抜歯創の治癒過程を遅延させる要因と考えられている。しかし、放射線が骨の新生、吸収という骨の代謝に及ぼす影響については不明な点が多く、とくに骨の代謝に関与する骨芽細胞や破骨細胞に対する放射線の影響については、それらの細胞の由来とも関連して興味深い問題である。

そこで今回著者は、骨代謝に及ぼす放射線の影響を明らかにする目的で、放射線照射ラットの抜歯創の治癒過程を形態学的に検索したので、得ら

れた所見を検討し以下考察を加えたい。

### 1. 実験材料と方法について

前述の如く、照射後抜歯を行い抜歯創の治癒過程を検索した研究は Frandsen<sup>27)</sup>, Horn ら<sup>30)</sup>および清水<sup>31)</sup>の報告があるにすぎない。

Frandsen は 200Kv-X 線を用い、ラット臼歯部に 1725 および 2400R 照射し、照射後 8 日目に下顎左側第一臼歯を抜去し、Horn らは 250Kv-X 線を用い、ラット頭部に 1500R 照射し、照射後 14 日目に上顎右側第一臼歯を抜去している。また清水は 10Mev ベータートロン電子線を用い、ラット上顎臼歯部に 1500 および 2000rad を照射し、照射後 7 日目に上顎右側第一臼歯を抜去している。

今回の実験においては、過去の研究結果および予備実験の結果より、日常臨床でよく用いられている  $^{60}\text{Co-}\gamma$  線を使い 1000 および 2000rad を 1 回照射し、照射後 7 日目に上顎左側第一臼歯を抜去した。また照射にあたり、他部への影響を極力避けるために照射野をできるだけ絞って上顎左側臼歯部のみとした。Ellis<sup>43)</sup> の提唱する nominal standard dose (以下 NSD と略す) の概念を応用すると、今回の実験に用いた 2000rad は、 $D = \text{NSD} \times T^{-0.11} \times N^{-0.24}$  ( $D$ : 総線量,  $T$ : 全治療期間,  $N$ : 分割回数) にあてはめると、5600rad, 4 週, 16 回分割照射という条件に相当し、比較的臨床に即した線量と思われる。

ラットの臼歯の抜歯は、とくに下顎において技術的に難しく、残根などの合併症が起こりやすい<sup>44, 45)</sup>とされている。今回の実験では、照射以外の影響を極力避ける目的で、また、組織計量学的に抜歯側と非抜歯側の骨量を比較検討するために上顎左側第一臼歯を抜去し前頭断の標本を作製した。

一方、照射後の抜歯創の治癒過程において個々の細胞の機能および微細構造的変化についてはほとんど検索はなされていないが、骨の代謝機構を検索する場合、骨の代謝に関与する骨芽細胞、破骨細胞などの細胞学的検索は不可欠であると考えられる。

このような観点から照射後の抜歯創の治癒過程を組織学的のみならず組織化学的、電顕的に検索

しそれぞれの所見を比較検討することは、放射線照射が骨代謝に及ぼす影響を明らかにするために意義のあることと思われる。

### 2. 組織学的所見について

ラットの正常抜歯創の治癒過程については比較的多くの検索がなされている<sup>46-52)</sup>。それらの研究では、上皮は抜歯後 7 日目頃に抜歯窩を被覆するようになり、窩底部からの骨新生は、抜歯後 2 日目頃より始まり、抜歯後 14 日目には抜歯窩は新生骨で満たされると報告されている。また、進藤<sup>39)</sup>は、抜歯後 2~3 日目にかけて多数の破骨細胞による活発な骨吸収像を、また、抜歯後 2 日目より抜歯窩外側の骨膜性骨新生像を観察している。

今回の検索でもほぼ同様の所見が認められた。すなわち、対照群では、抜歯窩内の骨新生に先立ち抜歯後 2~3 日目にかけて多数の破骨細胞による中隔歯槽骨部の活発な骨吸収がみられた。抜歯窩底部では抜歯後 2 日目頃より線維芽細胞と小血管に富む肉芽組織の形成が認められ、抜歯後 3 日目には骨芽細胞による骨新生が始まり、抜歯後 10 日目には抜歯窩はほぼ新生骨で満たされた。一方、抜歯窩外側の骨膜は抜歯後 1 日目より肥厚がみられ、その後経時的に活発な骨新生を示した。

以上のように、対照群では、抜歯後早期より、中隔歯槽骨部では破骨細胞による骨吸収がみられ、また、抜歯窩外側では骨膜性骨新生が観察されたが、このような所見は、初期の骨吸収および抜歯窩外側の骨膜性骨新生は、抜歯創の治癒過程において重要な一つの過程であることを示唆するものと思われる。

一方、放射線照射後に抜歯を行い、その治癒過程を検索した研究は少なく、2, 3 の報告があるにすぎない。

Frandsen<sup>27)</sup> は抜歯窩を病理組織学的に検索し、照射群では肉芽組織中の細胞成分の減少、上皮被覆の遅延、骨新生の減弱、著明な骨吸収などが起こることを観察している。そして 1725R 照射群では  $6/14$  に、2400R 照射群では  $5/10$  に radio-osteomyelitis の発現を観察している。また Horn ら<sup>30)</sup> は、抜歯創の治癒過程の初期を病理組織学的に検索し、血餅の吸収遅延、線維芽細胞の減少、骨芽細胞の減少による骨新生の遅延を観察している。

清水<sup>31)</sup>は抜歯窩を病理組織学的に検索し、Frandsen 同様、上皮被覆の遅延、著明な骨吸収、骨新生の減弱を観察し、2000rad 照射群では腐骨形成を認めている。

今回著者の検索においても、基本的には同様の所見が認められた。すなわち、照射群においては、抜歯創の治癒過程は遅延する傾向を示し、肉芽組織の形成は不良で、線維芽細胞の数は少なく線維形成も減弱していた。中隔歯槽骨部には抜歯後早期より多数の破骨細胞による骨吸収像が観察された。また、窩底部からの骨新生も減少しており、抜歯窩外側の骨膜性骨新生も遅延していた。特にこのような傾向は 2000rad 照射群において著しく、照射線量と治癒過程の障害の程度は相関する傾向を示していた。

また著者は抜歯後28日目まで検索したが、2000 rad 照射群においても腐骨形成などの放射線骨壊死の所見は認められなかった。これは、Frandsen は 250Kv-X 線を、清水は 10Mev 電子線を用いて照射を行っているが、250Kv-X 線、10Mev 電子線は今回検索に用いた  $\gamma$  線と比べて背後散乱、線量分布などの点で異なる性質を持つ<sup>53,54)</sup>と言われており、同じ線量でも障害の程度は異なるものと思われる。

また、過去の放射線骨障害の研究によると放射線骨壊死には上下顎の解剖学的構造および血液供給量の相違などが関与していると考えられており<sup>9,10,19)</sup>、抜歯をする部位によって障害の程度には若干の差異が生ずるものと思われる。

一方、局所への照射が全身に及ぼす影響についてはほとんど報告がなく、わずかに Frandsen が 2400R 照射群において照射および抜歯による体重の減少を観察しているにすぎない。今回の検索では、1000rad 照射群では照射、抜歯による体重の変化はみられず、また 2000rad 照射群では照射後 5 日目頃より体重の減少が観察されたが、照射後 10 日目（抜歯後 3 日目）頃より体重の回復がみられた。また 2000rad 照射群の Weight-Pair 対照群における抜歯創の治癒過程は、肉眼的、組織学的に正常対照群との間に著しい差異は認められず、2000rad 照射群にみられた体重の減少が抜歯創の治癒過程に及ぼす影響は軽度であると思われる。

る。

以上の所見より、照射後抜歯を行った場合、放射線骨壊死を起こさない線量においても、抜歯創の治癒過程は障害されることが明らかになったが、このような抜歯創の治癒過程の遅延には、放射線照射による局所組織の代謝障害が大きな要因をなすものと思われる。

### 3. 組織計量学的所見について

組織学的検索では、抜歯創の治癒過程の比較的初期より中隔歯槽骨部の骨吸収、抜歯窩および抜歯窩外側の骨膜性の骨新生が観察され、また照射の影響は治癒過程の比較的初期より認められたが、このような変化を定量的に把握するために組織計量学的検索を行った。とくに細胞の大きさや骨量の測定にあたり、従来のプランニメーターによる面積測定や、写真切りぬき法による面積測定などに比し、正確かつ迅速に測定できる Leitz ASM 画像解析装置を用いた。

抜歯創の治癒過程について組織計量学的に検索しているものは少なく、わずかに野間<sup>55)</sup>、千葉<sup>15)</sup>、進藤<sup>39)</sup>らの報告があるにすぎない。

野間は犬の正常抜歯創についてマイクロアンジオグラフィ、透明標本、組織標本などを用いて血管新生とその経過について検索し、抜歯窩底部の新生血管網の密度は抜歯後 3 日目から 5 日目にかけて増加し、抜歯後 10 日目にかけて減少したと報告している。

千葉は正常ラットと Alloxan 糖尿病ラットの抜歯創の治癒過程を組織計量学的に検索し、線維化、骨形成および上皮化を定量的に観察し、Alloxan 糖尿病ラットでは抜歯創の治癒過程が遅延することを報告している。

また進藤は、正常ラットと osteolathyrism ラットの抜歯創の治癒過程について、抜歯後 1～5 日目の中隔歯槽骨量と同部の破骨細胞数を計測し、抜歯創の中隔歯槽骨量は抜歯後 3 日目まで急激に減少すること、および破骨細胞数は抜歯後 3 日目にかけて急激に増加することを観察し、この時期までに骨吸収はほぼ完了すると報告している。

今回の検索では、照射群において肉芽組織中の線維芽細胞、血管および骨芽細胞数は対照群に比し減少しており、新生骨量も減少していた。また

線維芽細胞、骨芽細胞の大きさも照射群では減少しており、放射線照射によるこれらの個々の細胞への障害が示唆された。

また、中隔歯槽骨部にみられた破骨細胞数は、対照群においては抜歯後2.5日目にかけて経時的に増加し、その後減少する傾向を示していた。一方、照射群では、抜歯後1日目より対照群に比し多数の破骨細胞が出現し、抜歯後2.5日目まで増加し、その後減少する傾向を示すものの、抜歯後5日目においても、なお多数の破骨細胞が認められた。これに伴い、抜歯側の中隔歯槽骨量は、対照群、照射群とも経時的に減少する傾向を示していたが、抜歯側での残存骨量を抜歯直後の骨量の平均値と比較した値で有意差検定した結果では有意差は認められなかったことから、骨の吸収量については両群間にほとんど差はないものと思われる。

抜歯創の骨吸収に対する放射線の影響に関しては、Frandsen<sup>27)</sup>、Hornら<sup>30)</sup>、清水<sup>31)</sup>らは、いずれも多数の破骨細胞による著明な骨吸収を観察しているが、実際の骨吸収量および個々の破骨細胞の機能については触れていない。

今回の検索では、照射群においてFrandsenら同様、多数の破骨細胞が観察されたが、実際の骨吸収量は両群間で差がみられなかったことから、照射群においては同量の骨を吸収するのに多数の破骨細胞の参加が必要であり、放射線を照射した場合、個々の破骨細胞にも何らかの障害がもたらされるものと推測された。

#### 4. 組織化学的所見について

組織学的検索より、放射線照射により抜歯創の治癒過程が遅延することが明らかになり、また、治癒過程の遅延には治癒過程初期の抜歯窩を含む局所組織の代謝障害が重要な要因になっていることが示唆されたが、局所組織の代謝活性の変化をより明確に把握するために、抜歯創の治癒過程の比較的初期について組織化学的な検索を行った。

Todo<sup>49)</sup>は抜歯創の治癒過程を組織化学的に観察し、抜歯後早期には、リンゴ酸脱水素酵素のようなNAD依存性酵素の活性は、血餅では欠け、残存歯根膜や窩底部より増殖する線維芽細胞では通常の歯根膜細胞より弱い活性を示すと述べてい

る。また骨形成期においては、新生骨周囲の骨芽細胞および抜歯窩外側の骨膜に強いアルカリフォスファターゼ、酸フォスファターゼ活性、中等度のNAD依存性酵素活性を観察している。

また進藤<sup>39)</sup>は抜歯創の破骨細胞性骨吸収について組織化学的に検索し、抜歯後早期では、抜歯窩に面した部位にリンゴ酸脱水素酵素の減少を観察し、この部位では抜歯により組織が損傷されており、このような損傷された骨組織が抜歯創の修復時に、骨の新生に先立ち破骨細胞により吸収されるのであろうと述べている。また破骨細胞は高い酸フォスファターゼ活性や、リンゴ酸脱水素酵素活性を有することを観察し、破骨細胞の高い細胞活性と吸収機能との関連性を示唆している。

今回の検索では、対照群において、Todo<sup>49)</sup>や進藤<sup>39)</sup>と基本的にほぼ同様の所見が認められた。

すなわち、抜歯直後では抜歯窩内の血餅には活性は認められず、肉芽組織の形成に伴い高いリンゴ酸脱水素酵素活性と、酸フォスファターゼ活性を有する線維芽細胞が認められ、抜歯窩外側の骨膜は抜歯後2日目より各酵素の強い活性を示していた。抜歯後3日目には窩底部新生骨梁に接して各酵素の高い活性を示す骨芽細胞が多数認められた。また、破骨細胞は抜歯後2.5日目頃より中隔歯槽骨髄腔に多数認められ、酸フォスファターゼおよびリンゴ酸脱水素酵素の高い活性を有していた。

以上の所見より、抜歯創の治癒過程においては、比較的早期より抜歯窩のみならず抜歯窩外側の骨膜を含む局所組織の代謝活性が高まることが示唆された。

一方、骨組織に対する放射線の影響についての組織化学的な検索は、顎関節<sup>56)</sup>、膝関節および脛骨<sup>57-61)</sup>についてなされているが、抜歯創での報告は著者の渉猟した範囲では認められなかった。

大越<sup>56)</sup>は成長期ラットの顎関節部に200Kv-X線を5000R 1回照射および500R×10回の分割照射を行い、顎関節頭部を酵素組織化学的に検索し、照射後、アルカリフォスファターゼ反応が漸次消失し、照射3週間後に酸フォスファターゼ、コハク酸脱水素酵素の消失を認め、造骨細胞および破骨細胞の破壊による骨改造機構の抑制を示唆

している。

今回の抜歯創での検索では、照射群において、対照群に比し抜歯窩周囲の歯槽骨の骨細胞では、リンゴ酸脱水素酵素と酸フォスファターゼの若干の低下が認められ、肉芽組織中の線維芽細胞、抜歯窩内および骨膜の骨芽細胞は数が少なく、酵素活性にも低下がみられ、このような傾向は2000rad照射群で著しい傾向を示していた。このような所見は、組織学的および組織計量学的所見とともに、照射による抜歯窩を含む局所組織の代謝障害を示唆するものと思われ、照射により抜歯窩の骨芽細胞および抜歯窩外側の骨膜の細胞に何らかの障害が生じているものと推測された。

一方、破骨細胞は照射群では抜歯後早期より多数認められ、リンゴ酸脱水素酵素および酸フォスファターゼの高い活性を有しており、対照群と比較して酵素活性には著明な差は認められなかった。このように、今回の検索では大越と異なり、破骨細胞に酵素活性の明らかな低下は認められなかったが、これは照射組織の相違のみならず、放射線の種類、線量の相違に基因するものと思われる。

## 5. 電顕所見について

### 1) 対照群の所見について

#### (1) 中隔歯槽骨部の骨吸収について

今回検索した正常ラットでは抜歯後2～3日目にかけて、抜歯窩中隔歯槽骨部には多数の破骨細胞による活発な骨吸収像が認められた。対照群の破骨細胞は微細構造的に種々の発育段階を示していたが、全般的に、多核でミトコンドリアに富む大型の胞体をもち、骨の吸収部に面して良く発達した ruffled border を有していた。

ミトコンドリアは破骨細胞の最も顕著な細胞小器官であり<sup>62, 63)</sup>、その量は破骨細胞の発育の程度および骨吸収の活性の大小を示すものと考えられている。

Dudley ら<sup>62)</sup>は破骨細胞の胞体内にみられる多量のミトコンドリアは破骨細胞の微細構造的特徴の一つと考えており、また Scott<sup>64)</sup>は胎生期ラットの脛骨をオートラジオグラフィーを用いて観察し、ミトコンドリアが多く、微細構造が破骨細胞に類似した細胞を前破骨細胞と記載している。

Rifkin ら<sup>65)</sup>は、胎生ラットの頭蓋骨を電顕的に観察し、前破骨細胞にみられるミトコンドリアの量は分化の程度により差があると述べている。

今回の検索でも、破骨細胞の胞体内に多数のミトコンドリアが認められた。ミトコンドリアは円形ないし類円形で、ruffled border 部と、骨に密着する細胞質の部分を除き、胞体内に一様に分布していた。また小型で ruffled border の発達が不良な未熟と思われる破骨細胞では、ミトコンドリアの密度は減少していた。このような所見は、破骨細胞にとってミトコンドリアは重要な細胞小器官の一つであり、その微細構造的特徴の一つを成すものと思われ、また、組織化学的検索において、リンゴ酸脱水素酵素の高い活性を示したこととともに破骨細胞の高い細胞活性を示すものであり、ミトコンドリアの量は破骨細胞の分化の程度を示し、骨吸収能との密接な関係を示すものと思われる。

破骨細胞では、粗面小胞体は一般的に少ないといわれている<sup>62)</sup>。今回の検索では粗面小胞体はミトコンドリアの間に散在性に認められるものが多かったが、核の周囲には良く発達した粗面小胞体も認められた。また、破骨細胞は大型の細胞であり、進藤<sup>39)</sup>も述べているように細胞全体としての粗面小胞体の量は決して少なくないものと思われる。

Dudley ら<sup>62)</sup>は遊離リボゾームに関して、破骨細胞の細胞質に多くみられしばしば集合すると述べている。また Cameron<sup>63)</sup>は細胞質中に多くの分散したリボゾームがみられたと報告している。今回の観察でも遊離リボゾームは破骨細胞の細胞質中に広く分布していたが、特に骨と反対側の細胞質中に多くみられ、一部では集合している像も認められた。Ruffled border の発達が不良な小型の破骨細胞では、遊離リボゾームが多くみられた。このように遊離リボゾームの量は破骨細胞の発育の程度に関連することがうかがわれた。

Cameron<sup>62)</sup>は破骨細胞では Golgi 装置が発達し、核の周囲に多くみられ、約5層の層板構造とそれに近接する多数の Golgi 小胞から成ると述べている。今回の検索でも、Golgi 装置は核の周囲に認められ、数層の層板状構造より成り、その辺

縁部には多数の Golgi 小胞が認められた。この Golgi 小胞と破骨細胞の細胞質内の電子密度の高い小体との関連については、電顕組織化学的にこれらの小体や空胞および Golgi 装置の一部に酸フォスファターゼ活性が認められている<sup>67)</sup>ことなどから、これらの小体の形成に Golgi 装置が関与していることが示唆されている。さらに、ruffled border の突起間や吸収されている骨表面にも酸フォスファターゼ活性が認められており<sup>67, 68)</sup>、破骨細胞による骨吸収には酸フォスファターゼなどのライソゾーム酵素の関与<sup>69)</sup>が示唆されている。このように破骨細胞の Golgi 装置の発達は、組織化学的検索において破骨細胞に高い酸フォスファターゼ活性が認められたこととともに、破骨細胞において骨の吸収に関与する酵素の産生と分泌が活発に行われていることを示唆するものと思われる。

破骨細胞の骨の吸収部に面する部分には、ruffled border が認められた。Ruffled border は、大型で細胞小器官が豊富な破骨細胞では良く発達しており、細胞の広い部分に分布し、その指状突起の長さも約 6~7  $\mu\text{m}$  と長く、複雑に入り組んだ形態を示していた。Ruffled border については、細胞膜の陥入<sup>62, 70, 71)</sup>、細胞質の突起<sup>62)</sup>、あるいは両者の混合<sup>72, 78)</sup>であるという報告がみられるが、進藤<sup>39)</sup>は破骨細胞の成熟の程度によりそのような差が生ずると考えている。今回の検索では部位により両方の構成要素が認められ、細胞の部位によってもそのような差が生ずるものと思われた。また、Rifkin ら<sup>65)</sup>は前破骨細胞を電顕的に観察し、成熟した破骨細胞との相違点の一つとして ruffled border の欠如を述べている。Lucht<sup>74)</sup>は電顕組織化学的に破骨細胞の ruffled border 部において horseradish peroxidase の取込みを観察し、その部では著明な endocytosis が起こることを示唆している。このように ruffled border は破骨細胞において特徴的な微細構造の一つであり、その発達は破骨細胞の成熟の程度および骨吸収能の大小を示し、骨吸収にとって重要な役割を有すると考えられている。今回の検索においても、ruffled border の突起間および ruffled border に隣接する細胞質の大小多数の空胞内に遊離した骨結晶様構造

物が認められたが、このような所見は、Lucht<sup>74)</sup>も述べているように、ruffled border 部では遊離した骨結晶様構造物の活発な取込みが生じ、さらに細胞内において分解吸収が起こることを示すものと思われる。

破骨細胞による骨吸収面は他の部位と比較して染色性が異なることが組織学的に観察されている<sup>75)</sup>が、今回の検索においても、ruffled border に面する骨表面にはトルイジン青濃染層が認められ、骨質にも変化が生じているものと思われた。微細構造的にも ruffled border 直下の骨質の表層には遊離した骨結晶がみられ、その下層の骨質は燐タングステン酸に濃染する層として認められた。Ruffled border がみられない部位では骨質の遊離化は認められず、骨結晶の遊離化の程度は ruffled border の発達と関連するものと思われた。

一方、骨の構成成分である無機質および有機質の吸収に関して、ライソゾームの酵素の関与<sup>67)</sup>、および ruffled border 部での endocytosis<sup>76)</sup>が考えられているが、その機序については明らかではない。進藤<sup>39)</sup>は ruffled border 下の骨質を電顕的に観察し、ruffled border 直下の骨表層には骨結晶様構造物は認められるが、線維様構造物はみられないと述べている。またその下層の骨質は疎鬆化し、燐タングステン酸に濃染することを観察し、有機基質および無機質の性状の変化を示唆している。今回の検索においても、ruffled border 直下の骨表層には線維様構造物はみられず、またその下層の骨質は燐タングステン酸に濃染する層として認められた。また、燐タングステン酸染色標本において、ruffled border の突起間、およびその直下の骨質表層の骨結晶様構造物は脱灰され減少していたが、絮状の微細な構造物が認められた。このような所見は、ruffled border に面する骨の吸収面における有機基質および無機質の性状の変化を示すものと思われ、ruffled border 部では、非常に微小な段階で有機基質の破壊と無機質の脱灰が活発に行われていることを示唆するものと思われる。

## (2) 抜歯窩底部の骨新生について

今回検索した正常ラットでは抜歯後 3 日目頃より、抜歯窩底部に骨芽細胞による活発な骨新生が

みられた。このような骨芽細胞の多くは比較的大型で、良く発達した細胞小器官を有していた。

骨芽細胞は良く発達した粗面小胞体と Golgi 装置を有する基質産生能の高い細胞と考えられている<sup>77)</sup>。今回の検索でも活発な骨新生を行っていると思われる骨芽細胞の胞体内には、良く発達した粗面小胞体と Golgi 装置が認められ、核は胞体内の片側に偏在する傾向を示していた。Cameron<sup>63)</sup>は粗面小胞体の多くは扁平囊状で平行に配列し、不規則な拡張を示すものも多いと述べている。また、Golgi 装置は核の付近にみられることが多く、数層に重積する Golgi 層板と Golgi 小胞および Golgi 空胞の集団から成る<sup>66)</sup>といわれており、secretion type granule あるイライソゾーム様小体が見られるという報告もある<sup>63)</sup>。

今回の検索では、対照群の骨芽細胞の粗面小胞体は層状構造を示し、その多くは平行に配列する傾向を示し、一部では拡張している像もみられた。また Golgi 装置は核に近接して集合する傾向がみられ、数層の明瞭な Golgi 層板より成り、その辺縁部には多数の Golgi 小胞が認められ、このような骨芽細胞の周囲には多量の類骨組織がみられた。このように粗面小胞体と Golgi 装置は、骨芽細胞において重要な細胞小器官であり、その量は基質産生能の大小を示すものと思われる。

一方、骨芽細胞により形成された類骨組織は、多量の膠原小線維と線維間基質から成るといわれている<sup>62)</sup>。今回の検索においては、類骨組織中の膠原小線維の密度は高く、またそれらの膠原小線維は骨芽細胞に近い部位では、細く短い傾向がみられ、骨組織に近づくにつれて太く長くなり、明瞭な周期構造が認められた。このような所見は、骨芽細胞による活発な骨新生が起っていることを示唆するものと思われる。

骨芽細胞は骨形成の過程で骨基質中に埋入され骨細胞になる。この過程において細胞の大きさ、微細構造も徐々に変化を示し、特に周囲を類骨組織で囲まれた細胞は osteoid osteocyte<sup>62)</sup>あるいは young osteocyte<sup>78)</sup>と呼ばれ、粗面小胞体、Golgi 装置などが比較的良く発達しており骨芽細胞と同様の特徴をもつといわれている<sup>78)</sup>。今回の検索においても、周囲を類骨組織で囲まれた類骨細胞が

認められた。このような類骨細胞は骨芽細胞に比べやや小型であるが、粗面小胞体や Golgi 装置は比較的良く発達していた。このような類骨細胞は、周囲の類骨組織が石灰化するに従い骨細胞に移行するものと思われる。

このように、今回の検索においては、対照群の骨新生部にみられた骨芽細胞は、良く発達した粗面小胞体および Golgi 装置を有するものが多く、また比較的多くの類骨細胞も認められた。このような所見は、対照群においては、抜歯創の治療過程の早期より、骨芽細胞による活発な骨新生が起っていることを示唆するものと思われる。

### (3) 抜歯窩外側の骨膜性骨新生について

骨膜の細胞は潜在的骨形成能力を有し、骨折などの損傷を受けると、骨形成能力が活性化され、骨形成細胞として新生骨の形成に関与すると考えられている<sup>79)</sup>。

今回の検索では、組織学的に抜歯窩外側の骨膜は、抜歯後2日目頃より肥厚し、抜歯後2.5日目以降には骨芽細胞による活発な骨新生像が認められ、電顕的にもこの時期には多数の骨芽細胞が観察された。

抜歯窩外側の骨膜の骨芽細胞は、抜歯窩底部にみられた骨芽細胞と基本的には類似した微細構造を示しているが、その発達はより高度で胞体内には非常に良く発達した粗面小胞体と Golgi 装置が認められた。また、周囲を類骨組織で囲まれ、粗面小胞体、Golgi 装置などの細胞小器官が比較的豊富な類骨細胞も多数認められた。

このように抜歯窩外側の骨膜では、抜歯創の治療過程の早期より、良く発達した細胞小器官を有する骨芽細胞による活発な骨新生像が認められた。

抜歯窩外側の骨膜性骨新生は、とくにラットの抜歯創治療過程を検索した研究で報告されている<sup>47, 48, 50, 52)</sup>。

Åstrand ら<sup>50)</sup>は、ラットの上顎第一臼歯の抜歯創の治療過程を、テトラサイクリンを用いて検索し、抜歯後3日目頃より抜歯窩外側の骨膜性骨新生を観察し、抜歯窩外側の骨膜性骨新生は外力に対する代償的反応あるいは歯牙喪失により歯槽骨の補強のために生じることを示唆している。

今回の検索でも、組織学的、組織化学的および電顕的にも、拔牙後早期より、拔牙窩外側の骨膜部には活発な骨新生像がみられたが、ラットの歯槽骨は菲薄であり、骨の構造上からも、拔牙窩外側の骨膜は、拔牙という外力に対し、反応性、代償性に増殖し、歯槽骨を外側から補強するものと思われる。また、このような所見は、拔牙窩外側の骨膜は骨新生能力が高く、拔牙窩外側の骨膜性骨新生は拔牙創の治癒過程において重要な役割の一つであることを示唆するものと思われる。

## 2) 照射群の所見について

### (1) 中隔歯槽骨部の骨吸収について

組織学的および組織計量学的検索より、照射群では拔牙後早期より対照群に比し多数の破骨細胞がみられたが、比較的小型のものが多かった。微細構造的にも照射群の破骨細胞は ruffled border を中心に著しい変化を示していた。

照射群の破骨細胞においてもミトコンドリアは顕著な細胞小器官であったが、その数は対照群に比べ少なく、変形やクリスタの消失を示すものも多くみられた。粗面小胞体は対照群に比し少なく不規則な拡張を示すものも認められ、遊離リボゾームは細胞質内に広く分布していた。Golgi 装置は核の周囲に認められるものの対照群に比し少なく、発達は不良であった。

照射後拔牙創の治癒過程を検索した過去の研究においては、破骨細胞性骨吸収に関していずれも著明な骨吸収がみられたという記載のみで、個々の破骨細胞については述べられていない。また、放射線の骨組織への影響を検索した研究においても、個々の破骨細胞については検索されていない。

一方、放射線による微細構造的変化については、唾液腺<sup>32-35)</sup>、口腔粘膜<sup>37)</sup>、歯胚<sup>36)</sup>などについては比較的多くの検索がなされているが、骨組織とくに破骨細胞についての検索はほとんどなされていない。

藤木<sup>36)</sup>はラット頭部に  $^{60}\text{Co}-\gamma$  線を 25~500rad 照射し、歯胚を電顕的に検索し、照射3時間後よりクロマチンの凝集、ライソゾームの出現を観察し、放射線照射による細胞の初期変化は核に出現することを示唆している。

横川<sup>34)</sup>はカイウサギの耳下腺部に電子線を 3500 および 7000rad 照射し、耳下腺を電顕的に検索し、照射後3日目より腺房細胞の核濃縮、ミトコンドリアの膨化、粗面小胞体の配列の乱れを観察し、このような変化は照射後15日目で回復する傾向を示すと述べている。また磯野<sup>35)</sup>は照射されたヒト顎下腺を電顕的に検索し、3000~4000rad 照射された照射1ヶ月後の顎下腺で、漿液性細胞に核の変性、ミトコンドリアの膨化、粗面小胞体の配列の乱れ、数の減少を観察し、このような変化により唾液腺の機能障害が生ずることを示唆している。

今回の検索では、照射群の破骨細胞には、ミトコンドリア、粗面小胞体、および Golgi 装置などの細胞小器官に変化がみられ、また一部の破骨細胞では核質の減少などの核の変化が認められた。このような所見は、放射線照射により、破骨細胞にも障害が生ずることを示すものであり、個々の破骨細胞の細胞活性の低下、合成、分泌機能の異常を示すものと思われる。

また、照射群の破骨細胞では ruffled border の発達は全般的に不良で、特に 2000rad 照射群において変化が著しく、ほとんど ruffled border をもたない骨に密着した破骨細胞も認められた。Ruffled border が比較的良好に発達した破骨細胞においても、対照群に比しその占める領域は狭く、指状突起は短く、また突起間の空隙も狭かった。Ruffled border の発達不良に伴い、ruffled border の突起間や隣接する細胞質中の空隙内にみられる骨結晶様構造物は対照群に比し少なく、骨結晶様構造物も遊離の傾向は少なく、集塊状、あるいは、小粒子状を呈していた。一方、ruffled border 直下の骨質の性状も対照群と異なり、骨結晶の遊離の傾向は少なく、その下層の骨質の疎鬆化の程度も軽度であった。

進藤<sup>39)</sup>は osteolathyrisism ラットの拔牙創の破骨細胞を電顕的に検索し、osteolathyrisism 群の破骨細胞ではミトコンドリアなどの細胞小器官と ruffled border の発達の障害を観察し、osteolathyrisism の場合、このような破骨細胞の構造の異常によりその機能が障害され、骨吸収の障害が起こることを示唆している。

今回の電顕的検索により得られた以上のような所見は、抜歯創に出現する破骨細胞も放射線照射により微細構造的変化を起すことを示すものであり、照射により骨吸収機転に障害が生ずることを示唆するものと思われる。

一方、放射線による組織障害の成り立ちに関しては、組織を構成する細胞への直接的な影響のみならず、血管系の障害を介する放射線の二次的な影響も重要な要因として考えられている<sup>80-84)</sup>。

山野<sup>80)</sup>は家兎頭部に<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 線を500~6000rad照射し、大脳皮質を電顕的に検索し、毛細血管およびそれを取りまく星状膠細胞に著明な形態学的変化を観察し、神経細胞系の放射線障害は血管系の障害を介して二次的に発生すると報告している。

佐藤<sup>19)</sup>は、家兎下顎部に<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 線3000~12000Rを分割照射し、下顎骨の障害をマイクロアンジオグラフィーにより検索し、微細血管の変化を観察し、骨の血管障害と放射線骨壊死の関連性を示唆している。

また、三枝<sup>84)</sup>は下肢に骨折を惹起させたラットの骨折部位に、骨折後3日目に<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 線3000radを照射し、マイクロラジオグラム、マイクロアンジオグラムを用いて検索し、仮骨形成と血管密度の減少を観察し、骨折後の仮骨形成には血管系への放射線の障害による二次的影響が強く働くことを示唆している。

このように骨組織においても、骨の細胞成分への影響のみならず骨の血管系への障害を介する二次的な影響が大きな要因となると考えられている。

今回の組織学的、組織計量学的検索では、照射群では肉芽組織の形成は不良で、肉芽組織中の血管数も減少していたことから、局所の循環系の障害は十分考えられることである。また、破骨細胞は微細構造的に多数のミトコンドリアを有しており、組織化学的にも高度のリンゴ酸脱水素酵素活性が認められ、細胞活性が非常に高い細胞と考えられる。それゆえ、破骨細胞は循環系の影響を受け易い細胞であり、照射による破骨細胞の微細構造的変化の出現には、放射線の直接的影響とともに、局所の循環系の障害を介する二次的な影響も一つの要因となり得るものと思われる。

破骨細胞の由来については種々の説があり<sup>85-90)</sup>、現在においてもなお不明点が多いが、今回の検索では照射群の破骨細胞は微細構造的に核質の分散など核の変化を示すものが多く認められており、このような所見は抜歯創にみられた破骨細胞の由来となる細胞への照射の影響を示唆するものと思われる。

## (2) 抜歯窩底部の骨新生について

組織学的検索および組織計量学的検索より、抜歯窩底部の骨新生部にみられた骨芽細胞は、照射群では対照群に比し小型で数も少なく、骨新生の遅延が認められたが、電顕的にも照射群の骨芽細胞は微細構造的に種々の変化を示していた。

照射群の骨芽細胞では、核に核質の減少を示すものが多く認められた。照射群においても粗面小胞体は顕著な細胞小器官であったが、その量は対照群に比し少なく、不規則な拡張を示すものもみられた。Golgi装置も対照群に比し少なく、明瞭な層板状構造はみられず、一部では著しい拡張が認められた。ミトコンドリアの多くは、クリスタの消失や変形を示しており、その量は対照群に比し減少していた。

また、このような細胞小器官の変化に伴い、照射群では対照群に比し、骨芽細胞周囲の類骨組織の量は少なく、類骨組織中の膠原小線維の密度は低く、石灰化巣も減少していた。

Marquart<sup>38)</sup>はマウスに<sup>224</sup>Raを投与し、脛骨骨幹部の骨細胞を電顕的に検索し、クロマチンの濃縮、ミトコンドリアの膨化およびクリスタの消失、粗面小胞体の拡張、Golgi装置の変化などを観察している。

このような所見は、今回照射群で観察された骨芽細胞の微細構造的変化と基本的には共通するものであり、今回の検索においても放射線照射により骨芽細胞に微細構造的変化が生じたことを示唆するものと思われる。

また、Amemiya<sup>91)</sup>はosteolathyrismラットの大腿骨の過骨症部を電顕的に検索し、個々の骨芽細胞の細胞小器官、特に粗面小胞体の発育障害を観察し、このような細胞小器官の変化と基質の形成障害および石灰化障害の関連性を示唆している。

今回の検索においても、照射群の骨芽細胞は、細胞小器官の変化を示しており、周囲の類骨組織も対照群に比し少なかった。このような所見は、照射群での骨新生の障害は、骨芽細胞の微細構造的変化に基づく骨芽細胞の活性の低下、および基質の合成、分泌の障害によることを示唆するものと思われる。

一方、抜歯窩にみられる骨芽細胞の由来については、小池<sup>52)</sup>はラットの抜歯創の治癒過程をオートラジオグラフィの手法を用いて観察し、抜歯前に歯根膜を構成していた細胞、歯槽骨骨内膜の細胞、および血管周囲の細胞などが抜歯後、分裂、増殖し、骨芽細胞に分化すると述べている。

今回の検索において得られた以上のような所見は、照射群の骨芽細胞にみられた微細構造的変化は、骨芽細胞が由来すると考えられる歯根膜、骨内膜および血管周囲の細胞への放射線の直接的影響によることを示唆するものと思われるが、一方前述したごとく、放射線照射によってもたらされた循環障害を介する二次的な影響も十分考慮すべきものと考えられる。

### (3) 抜歯窩外側の骨膜性骨新生について

組織学的検索では、照射群においては抜歯窩外側の骨膜性骨新生部の骨芽細胞は、対照群に比し数も少なく、骨膜性骨新生の障害が認められたが、電顕的にも抜歯窩内の骨芽細胞と基本的には類似した微細構造的変化を示していた。

照射群では、骨膜性骨新生部の骨芽細胞の核は核質の減少、あるいは凝集を示すものが多く、粗面小胞体、Golgi装置、ミトコンドリアなどの細胞小器官の発達は不良で、細胞質の辺縁部に遊離リボゾームが集合している骨芽細胞も一部では認められた。このような細胞小器官の変化に伴い、骨芽細胞周囲の類骨組織の量は、対照群に比し少なく、類骨組織に含まれる膠原小線維も鬆疎であった。このような所見は、抜歯窩底部の骨芽細胞と同様に放射線照射により、骨膜の骨芽細胞は細胞機能の低下とそれに基づく基質産生能の減弱をきたすことを示すものと思われる。

このような変化は2000rad照射群において特に著明であった。2000rad照射群では組織学的にも骨膜性の骨新生はほとんど認められなかったが、

電顕的にも、骨組織に沿って、扁平ないし紡錘形の細胞小器官に乏しい細胞がみられるにすぎず、類骨組織も骨辺縁部に限局していた。また、一部では細胞境界が不明瞭な、変性した骨芽細胞も認められた。

抜歯窩外側の骨膜性骨新生について橋本<sup>44)</sup>、進藤<sup>39)</sup>はそれぞれアロキサン糖尿病、osteolathyrismsを惹起したラットの抜歯創を検索し、実験群においても骨膜性骨新生を観察している。このように、抜歯窩外側の骨膜性骨新生は、全体的にかなりの障害がある場合でも、生ずるものであり、Todo<sup>48)</sup>も述べているように、抜歯創の治癒過程において重要な役割を有するものと思われる。

一方、照射後の抜歯窩外側の骨膜性骨新生については報告がなく、骨膜への放射線の影響については2, 3の臨床的報告<sup>7, 8, 13)</sup>がみられるにすぎない。徳富<sup>13)</sup>は放射線治療を受けた患者の摘出顎骨をX線学的、病理組織学的に検索し、骨膜において骨芽細胞、線維芽細胞の消失、および硝子化を報告している。

今回の検索では、2000rad照射群において、抜歯窩外側の骨膜性骨新生はほとんど認められなかったが、このような所見は、2000rad照射群において、抜歯窩外側の骨膜の骨芽細胞には、放射線照射により重篤な障害が生じたことを示すものであり、細胞の基質形成機能のみならず、細胞の増殖能の低下により、骨膜性骨新生の障害が生じたことを示唆するものと思われる。

また、骨膜にみられた骨芽細胞は照射時の骨膜の細胞と考えられ、このような障害には、骨膜の細胞に対する放射線の直接的な影響が大きな要因となっているものと思われる。

### 6. 抜歯創治癒過程の骨代謝に及ぼす放射線の影響について

顎骨の放射線障害については数多くの研究がなされており、骨の細胞成分への放射線の直接的影響および放射線による血管系の障害を介する二次的な影響がその要因として考えられているが、それらの研究の多くは骨の新生に対する放射線の影響を検索したもので、骨の吸収に対する影響については不明な点が多い。

また、抜歯創の治癒過程に及ぼす放射線の影響

についても種々の検索がなされているが、その多くは放射線骨壊死との関連を検索したものであり、放射線が抜歯創の骨の新生、吸収といった骨代謝に及ぼす基本的な影響については詳細な検索はなされていない。

今回の検索では、照射群では対照群に比し抜歯窩の骨新生は遅延し、新生骨量も少なく、そこにみられた骨芽細胞も少なく、小型で、電顕的検索においても、骨芽細胞の粗面小胞体、Golgi 装置などの細胞小器官に変化が観察された。

前述のように、Marquart<sup>38)</sup>は  $^{224}\text{Ra}$  を投与したマウスの脛骨骨幹部の骨細胞を電顕的に検索し、ミトコンドリアや粗面小胞体などの細胞小器官の変化を観察している。

照射群の骨芽細胞でみられた微細構造的変化は、このような変化と基本的には共通するものと考えられ、今回得られた以上のような所見は、抜歯窩の骨新生の障害は、骨芽細胞の微細構造的変化に基づく、細胞活性の低下や基質形成能の障害によること、およびそのような微細構造的変化は骨芽細胞が由来すると考えられる細胞への放射線の直接的影響ならびに放射線による局所の循環障害を介する二次的影響に基づくことを示唆するものと思われる。

また、今回の検索では、照射群において抜歯窩外側の骨膜性骨新生は障害され、特に 2000rad 照射群ではほとんど骨新生は認められなかった。電顕的にも、骨膜の骨芽細胞は抜歯窩の骨芽細胞と同様の微細構造的変化を示していたが、核の変化を示すものが多く、また一部では変性した骨芽細胞も認められ、このような変化は 2000rad 照射群において著明であった。このような所見は、放射線照射により骨膜の細胞に重篤な障害が生じたことを示すものであり、骨膜の骨芽細胞の微細構造的変化に基づく細胞の基質形成能および増殖能の低下により、骨膜性骨新生の障害が生ずること、およびそのような微細構造的変化は、放射線による局所の循環障害を介する二次的な影響もある程度考えられるが、放射線による骨膜の細胞に対する直接的影響が大きな要因となっていることを示唆するものと思われる。

一方、骨吸収に関与する破骨細胞への影響につ

いては、破骨細胞は骨芽細胞より放射線感受性が低いと考えられており<sup>32)</sup>、照射後の抜歯創を検索した研究においても、照射群において破骨細胞による著明な骨吸収を観察している。

今回の検索では、照射群において、組織学的、組織計量学的検索により中隔齒槽骨部に対照群に比し多数の破骨細胞が認められたが、電顕的検索では、細胞小器官や ruffled border に微細構造的変化がみられ、個々の破骨細胞にも障害が起こっていることが明らかになった。またそのような破骨細胞の微細構造の変化に伴う骨の吸収機構の変化も観察された。

今回の検索結果から放射線照射による局所血管系の障害および局所の血管周囲の細胞や骨髄細胞の障害による個々の破骨細胞の微細構造的変化に伴い骨吸収機能が障害されるものと考えられるが、このような個々の細胞の骨吸収機能の障害を代償するために多数の破骨細胞が出現し、骨を吸収するものと思われる。

以上のように、放射線照射ラットの抜歯創治癒過程の遅延は、骨芽細胞や破骨細胞の微細構造的変化に基づく骨の代謝障害によることが明らかになったが、このような変化の発現には放射線による細胞への直接的影響および局所の血管の損傷に続発する循環障害が重要な役割を演じているものと思われる。

## 結 語

放射線の骨代謝への基本的な影響を明らかにする目的で、放射線照射ラットの臼歯抜歯創の治癒過程における骨の新生、吸収を中心に、組織学的、組織計量学的、組織化学的、および電顕的に検索した。その結果を要約すると次のごとくである。

1. 照射群では抜歯創の治癒過程に遅延が認められた。このような傾向はとくに 2000rad 照射群において著しく、障害の程度は照射線量と相関する傾向を示した。

2. 照射群では、治癒過程の初期における変化が著明で、抜歯窩肉芽組織の形成不良およびそれに伴う骨新生の障害が認められた。

3. 組織計量学的に、照射群では対照群に比し骨芽細胞は小型で数も少なく、新生骨量も減少し

ていた。

4. 照射群では抜歯窩外側の骨膜性骨新生は遅延し、とくに 2000rad 照射群において著明であった。

5. 組織化学的に、とくに骨芽細胞にリンゴ酸脱水素酵素、酸フォスファターゼの活性の低下が認められた。

6. 電顕的に、照射群の抜歯窩にみられた骨芽細胞は細胞小器官の発達が不良で、類骨組織の形成障害がみられた。

7. 照射群では、抜歯窩外側の骨膜性骨新生部の骨芽細胞にも抜歯窩の骨芽細胞と同様に、細胞小器官を中心に微細構造的変化が認められた。このような変化はとくに 2000rad 照射群において著明であった。

8. 照射群では、中隔歯槽骨部において対照群より多くの破骨細胞が認められたが、組織計量学的には骨の吸収量に有意差はみられなかった。

9. 電顕的に照射群の破骨細胞は、対照群に比し細胞小器官および ruffled border の発達が著し

く不良であり、ruffled border 直下の骨質の疎鬆化の程度も軽度であり、骨吸収機転の障害が認められた。

このような所見は、放射線照射による抜歯創治癒過程の遅延は、骨芽細胞および破骨細胞の微細構造的変化に基づく骨の代謝障害によることを示唆するものと思われた。また、今回の検索結果に基づいて、放射線の骨代謝への作用機序について若干の考察を加えた。

謝辞：本稿を終えるにあたり、本研究の機会を与えて下さり懇切なる御指導、御校閲を賜りました北海道大学歯学部歯科放射線学講座、山崎岐男教授、ならびに口腔病理学講座、雨宮 璋教授に深甚なる謝意を表します。また、終始御援助、御協力いただきました歯科放射線学教室員各位、ならびに口腔病理学教室員各位に深く感謝致します。

本研究の一部は、第23回歯科放射線学会総会（1982年10月）、第24回歯科放射線学会総会（1983年10月）にて発表した。また、要旨は第5回北海道歯学会（1983年12月）において発表した。

抄録：放射線の骨代謝に及ぼす基本的な影響を明らかにする目的で、放射線照射ラットの臼歯抜歯創の治癒過程における、骨の新生や吸収を中心に形態学的に検索した。

照射群では、抜歯創の治癒過程は遅延する傾向を示し、とくに治癒過程の初期における変化が著明で、肉芽組織の形成不良および骨新生の障害が認められた。また、抜歯窩外側の骨膜性骨新生の障害も観察された。照射群の骨芽細胞は、組織化学的に酵素活性の低下を示し、微細構造的にも RER, Golgi 装置等の細胞小器官の発達が不良で、類骨組織の形成障害が観察された。一方、中隔歯槽骨部には、照射群では抜歯後早期より対照群に比し多数の破骨細胞が出現したが、骨の吸収量には有意差は認められなかった。電顕的には、照射群の破骨細胞は、細胞小器官および ruffled border の発達が著しく不良で、吸収面の骨質の疎鬆化の程度も軽度であり、骨吸収機転の障害が認められた。

今回の検索結果は、放射線照射による抜歯創治癒過程の遅延は、骨芽細胞および破骨細胞の微細構造的変化に基づく骨の代謝障害によることを示唆するものと思われる。

## 文 献

- 1) 鈴野之男：放射線医学史 p. 43-50, 岩波書店, 東京, 1973.
- 2) 重松 康：口腔癌の放射線治療. 日医放会誌 37: 261-285, 1977.
- 3) 堀内淳一：癌・放射線療法 p. 161-169, 篠原出版, 東京, 1978.
- 4) Kashima, H. K., Kirkham, W. R. and Andrews, J. R.: Postirradiation sialoadenitis. A study of the clinical features, histopathologic changes and serum enzyme variations follo-

- wing irradiation of human salivary glands. Am. J. Roentgenol. 94: 271-291, 1965.
- 5) Eneroth, C. M., Henrikson, C. O. and Jakobsson, P. Å.: Effect of fractionated radiotherapy on salivary gland function. Cancer 30: 1147-1153, 1972.
- 6) Busuttill, A.: Irradiation-induced changes in human salivary glands. Clin. Otolaryngol. 2: 199-206, 1977.
- 7) 小林一郎, 高木治洋, 横井宏彰, 若木 伸, 奥原政雄, 立野育郎, 松本 治, 興村哲郎：口腔癌に対する放射線治療の臨床的検討. 第2

- 報 放射線顎骨々疽について. 口外誌 8: 253-262, 1962.
- 8) 奥山武雄, 堀内淳一, 足立 忠, 猪俣宏史: 口腔領域における放射線骨障害 (いわゆる放射線骨壊死) に関する考察 一第1報 発生頻度とX線写真所見について一 臨放 14: 472-481, 1969.
- 9) 水野明夫: 放射線照射の下顎骨への影響 (放射線骨障害) に関する研究. 口病誌 39: 489-517, 1972.
- 10) 奥山武雄, 国光隆史, 水野明夫, 足立 忠: 口腔癌の放射線治療に伴う骨障害 (いわゆる放射線骨壊死) 一第2報: Microradiogram 所見について一 日医放会誌 33: 110-120, 1973.
- 11) Guttenberg, S. A.: Osteoradionecrosis of the jaw. *Am. J. Surg.* 127: 326-332, 1974.
- 12) 藤下昌巳, 上村修三郎, 和田卓郎, 速水昭宗, 淵端 孟, 井上俊彦: 放射線治療後の顎骨の変化について. 国際歯科ジャーナル 3: 551-558, 1976.
- 13) 徳富敏信: 人顎骨におよぼす放射線の影響に関する組織学的研究. 九州歯会誌 29: 737-756, 1976.
- 14) 田ヶ谷二三夫: 放射線骨傷害の臨床的実験的研究. 日医放会誌 27: 173-203, 1967.
- 15) 中村平蔵: 最新口腔外科学 p. 668-669, 医歯薬出版, 東京, 1974.
- 16) Regaud, C.: Sur la sensibilité du tissu osseux normal vis-a-vis des radiations X et  $\gamma$  et sur mécanisme de l'ostéo-radio-nécrose. *Compt. rend. Soc. de biol.* 87: 629-632, 1922.
- 17) Gowgiel, J. M.: Experimental radio-osteonecrosis of the jaws. *J. Dent. Res.* 39: 176-197, 1960.
- 18) Meyer, I., Shklar, G. and Turner, J.: A comparison of the effects of 200KV radiation and cobalt-60 radiation on the jaws and dental structure of the white rat. *Oral Surg.* 15: 1098-1108, 1962.
- 19) 佐藤 功: 下顎骨における放射線骨障害の実験的研究 (Microangiography 及び組織学的観察). 歯学 58: 858-881, 1971.
- 20) 梅崎幸男:  $^{60}\text{Co}$  大量局所照射の成熟家兎下顎におよぼす影響について. 九州歯会誌 30: 1093-1127, 1977.
- 21) 楊 榮展: 放射線障害に関する研究. 一下顎骨の障害に及ぼす歯牙の影響について一. 九州歯会誌 35: 98-122, 1981.
- 22) 水野明夫: 顎の放射線骨障害 (いわゆる放射線骨壊死) について 一口腔外科臨床の立場から一. 口病誌 42: 223, 1975.
- 23) 松村智弘, 磯野和秀, 菅原利夫, 藤田訓也, 藤下昌巳, 淵端 孟: 頭頸部領域悪性腫瘍に対する放射線治療後の抜歯11症例の検討. 口外誌 25: 197-202, 1979.
- 24) 藤下昌巳: 放射線治療による顎骨障害に関する研究. 歯放 20: 237-261, 1980.
- 25) Stein, M., Brady, L. W. and Raventos, A.: The effects of radiation on extraction-wound healing in the rat. *Cancer* 10: 1167-1181, 1957.
- 26) Chambers, F., Ng, E., Ogden, H., Coggs, G. and Crane, J.: Mandibular osteomyelitis in dogs following irradiation. *Oral Surg.* 11: 843-859, 1958.
- 27) Frandsen, A. M.: Effects of roentgen irradiation of the jaws on socket healing in young rats. *Acta Odont. Scand.* 20: 307-333, 1962.
- 28) Shearer, H. T.: Effect of cobalt-60 radiation on extraction healing in the mandibles of dogs. *J. Oral Surg.* 25: 115-121, 1967.
- 29) Zach, L., Cohen, G., Scopp, I. and Kaplan, G.: Experimental radio-osteonecrosis in Rhesus Macaque jaws; Therapeutic irradiation dose effect on dental extraction-wound healing. *Am. J. Phys. Anthropol.* 38: 325-330, 1970.
- 30) Horn, Y., Sela, M. N., Ulmanský, M. and Sela, J.: Effect of irradiation-timing on the initial socket healing in rats. *Int. J. Oral Surg.* 8: 457-461, 1979.
- 31) 清水武文: 放射線照射が抜歯創に及ぼす影響に関する研究. 日大歯学 56: 253-261, 1982.
- 32) Pratt, N. E. and Sodicoff, M.: Ultrastructural injury following X-irradiation of rat parotid gland acinar cells. *Archs. Oral Biol.* 17: 1177-1186, 1972.
- 33) El-Mofty, S. K. and Kahn, A. J.: Early membrane injury in lethally irradiated salivary gland cells. *Int. J. Radiat. Biol.* 39: 55-62, 1981.
- 34) 横川秀夫: 唾液腺の病理形態学的研究 B. ベーターロン電子線によるカイウサギの耳下腺における変化について. 日大歯学 50: 790-799, 1976.
- 35) 磯野和秀: 人顎下腺の超微形態学的研究 一特に口腔領域悪性腫瘍患者放射線治療の影響について一. 阪大歯学誌 22: 46-70, 1977.
- 36) 藤木知一: ラット歯胚細胞に対する放射線照射の影響について. 歯放 21: 67-83, 1981.
- 37) Liu, H. M., Meyer, J. and Waterhouse, J. P.: An ultrastructural study of the effects of X-irradiation on the oral epithelium of the rat: Qualitative aspects. *J. Oral Pathol.* 5: 194-208, 1976.
- 38) Marquart, K. H.: Early ultrastructural changes in osteocytes from the proximal tibial metaphysis of mice after the incorporation of  $^{224}\text{Ra}$ . *Rad. Res.* 69: 40-53, 1977.
- 39) 進藤正信: Osteolathyrism ラットの抜歯創の

- 破骨細胞性骨吸収に関する形態学的研究. 歯基礎誌 24 : 668-705, 1982.
- 40) 須賀昭一, 田熊庄三郎, 佐々木 哲 : 歯の研究法, p. 112-115, 医歯葉出版, 東京, 1973.
- 41) Burka, T. and Anderson, P. J. : Histochemical methods for acid phosphatase using hexazonium pararosanilin as coupler. J. Histochem. Cytochem. 10 : 741-753, 1962.
- 42) 小川和朗, 斎藤多久馬, 平野 寛, 馬屋原宏 : 高アルカリ性 pH 領域における諸種フォスファターゼ活性検出のためのクエン酸鉛法. 解剖学雑誌 42 : 40, 1967.
- 43) Ellis, F. : Dose, time, and fractionation : A clinical hypothesis. Clin. Radiol. 20 : 1-7, 1969.
- 44) 橋本 幸 : アロキサン糖尿病ラットの抜歯創治療過程に関する実験的研究. 口病誌 30 : 307-328, 1963.
- 45) 千葉英輔 : Alloxan 糖尿病ラットの血糖値別による抜歯創治療過程に関する実験的研究. 歯科学報 68 : 1471-1491, 1968.
- 46) Huebsch, R. F., Coleman, R. D., Frandsen, A. M. and Becks, H. : The healing process following molar extraction. I. Normal male rats (Long-Evans strain). Oral Surg. 5 : 864-876, 1952.
- 47) Pietrovski, J. and Massler, M. : Ridge remodeling after tooth extraction in rats. J. Dent. Res. 46 : 222-231, 1967.
- 48) Todo, H. : Healing mechanism of tooth extraction wounds in rats-I. Initial cellular response to tooth extraction in rats studied with  $^3\text{H}$ -thymidine. Archs. Oral Biol. 13 : 1421-1427, 1968.
- 49) Todo, H. : Healing mechanism of tooth extraction wounds in rats-II. Histochemical observations on hydrolytic and oxidative enzymes in tooth extraction wounds in the rat. Archs. Oral Biol. 14 : 1429-1443, 1968.
- 50) Åstrand, P. and Carlsson, G. E. : Changes in the alveolar process after extractions in the white rat. A histologic and fluorescence microscopic study. Acta Odont. Scand. 27 : 113-127, 1969.
- 51) Johansen, J. R. : Repair of the post-extraction alveolus in the Wistar rat. A histologic and autoradiographic study. Acta Odont. Scand. 28 : 441-461, 1970.
- 52) 小池平一郎 : 抜歯創の治療に関する実験的研究特に  $^3\text{H}$ -thymidine autoradiography による未分化間葉系細胞の増殖と分化について. 歯科学報 75 : 476-511, 1975.
- 53) 横山 敬 : Betatron による超高压放射線治療の臨床的研究. 日医放会誌 31 : 194-220, 1971.
- 54) 松田忠義 : 高エネルギー電子線治療. 臨放 17 : 763-776, 1972.
- 55) 野間弘康 : 抜歯創の血管新生およびその経過に関する実験的研究. 歯科学報 66 : 288-305, 1966.
- 56) 大越基弘 : X線照射が成長期顎関節に及ぼす影響に関する酵素組織化学的ならびに組織化学的研究. 口科誌 23 : 584-607, 1974.
- 57) Sams, A. : The effect of 2000r of X-rays on the acid and alkaline phosphatase of mouse tibiae. Int. J. Rad. Biol. 10 : 123-140, 1966.
- 58) Furstman, L. L. : Effect of radiation on bone. J. Dent. Res. 51 : 596-604, 1972.
- 59) Cohn, S. H. and Gong, J. H. : Effect of 2000 roentgens local X-irradiation on metabolism and alkaline phosphatase activity of rat bone. Am. J. Physiol. 173 : 115-119, 1953.
- 60) Woodard, H. Q. and Spiers, F. W. : The effect of X rays different qualities on the alkaline phosphatase of living mouse bone. Brit. J. Radiol. 26 : 38-46, 1953.
- 61) 黒田良和 : X線の幼若骨に及ぼす影響の実験的研究. 日医放会誌 20 : 1108-1131, 1960.
- 62) Dudley, H. R. and Spiro, D. : The fine structure of bone cells. J. Biophys. Biochem. Cytol. 11 : 627-649, 1961.
- 63) Cameron, D. A. : The fine structure of bone and calcified cartilage. A critical review of the contribution of electron microscopy to the understanding of osteogenesis. Clin. Orthop. 26 : 199-288, 1963.
- 64) Scott, B. L. : Thymidine- $^3\text{H}$  electron microscope radioautography of osteogenic cells in the fetal rats. J. Cell Biol. 35 : 115-126, 1967.
- 65) Rifkin, B. R., Brand, J. S., Cushing, J. E., Coleman, S. J. and Sanavi, F. : Fine structure of fetal rat calvarium ; Provisional identification of preosteoclasts. Calcif. Tissue Int. 31 : 21-28, 1980.
- 66) Cameron, D. A. : The Golgi apparatus in bone and cartilage cells. Clin. Orthop. 58 : 191-211, 1968.
- 67) Lucht, U. : Acid phosphatase of osteoclasts demonstrated by electron microscopic histochemistry. Histochemie 28 : 103-117, 1971.
- 68) Schofield, B. H., Levin, L. S. and Doty, S. B. : Ultrastructure and lysosomal histochemistry of rat osteoclasts. Calc. Tiss. Res. 14 : 153-160, 1974.
- 69) Vaes, G. : Lysosomes in Biology and Pathology I (Dingel, J. T. and Fell, H. B.) p. 217-253, North Holland Pub., Amsterdam, 1969.
- 70) Gonzales, F. and Karnovsky, M. J. : Electron microscopy of osteoclasts in healing fractures of rat bone. J. Biophys. Biochem. Cytol. 9 : 299-316, 1961.

- 71) Scott, B. L.: The occurrence of specific cytoplasmic granules in the osteoclast. *J. Ultrastruct. Res.* **19**: 417-431, 1967.
- 72) Hancox, N. M. and Boothroyd, B.: Motion picture and electron microscope studies on the embryonic avian osteoclast. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **11**: 651-661, 1961.
- 73) Kallio, D. M., Garant, P. R. and Minkin, C.: Evidence of coated membranes in the ruffled border of the osteoclast. *J. Ultrastruct. Res.* **37**: 169-177, 1971.
- 74) Lucht, U.: Absorption of peroxidase by osteoclasts as studied by electron microscope histochemistry. *Histochemie* **29**: 274-286, 1972.
- 75) Greulich, R. C.: Organic mass distribution in bone matrix undergoing osteoclastic resorption. *Archs. Oral Biol.* **3**: 137-142, 1961.
- 76) Lucht, U.: Cytoplasmic vacuoles and bodies of the osteoclast. An electron microscope study. *Z. Zellforsch.* **135**: 229-244, 1972.
- 77) 倉橋和啓：骨の細胞の微細構造。細胞 **4**: 25-36, 1972.
- 78) Baud, C. A.: Submicroscopic structure and functional aspects of the osteocyte. *Clin. Orthop.* **56**: 227-236, 1968.
- 79) Bloom, W. and Fawcett, D. W.: A Textbook of Histology 10th edn., p. 244-287, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1975.
- 80) 山野 究：中枢神経組織に対する放射線の影響に関する電子顕微鏡的研究。日医放会誌 **29**: 597-610, 1969.
- 81) Broerse, J. J., Reinhold, H. S., Buisman, G. H. and Engels, A. C.: Effects of 15-Mev neutrons on capillary endothelium in the rat. *Rad. Res.* **56**: 180-185, 1973.
- 82) 河村文夫, 藤原寿則, 麻植淳治, 長瀬正彦：照射による微小循環系の障害。細胞 **7**: 17-27, 1975.
- 83) 金子稜威雄：X線の毛細血管に及ぼす影響について。日医放会誌 **36**: 425-432, 1976.
- 84) 三枝富司夫：骨折後の放射線照射の仮骨形成へおよぼす影響についての実験的研究—血管の変化と仮骨形成の観察—。歯学 **68**: 916-935, 1981.
- 85) Fischman, D. A. and Hay, E. D.: Origin of osteoclasts from mononuclear leukocytes in regenerating newt limbs. *Anat. Rec.* **143**: 329-337, 1962.
- 86) Young, R. W.: Cell proliferation and specialization during endochondral osteogenesis in young rats. *J. Cell Biol.* **14**: 357-370, 1962.
- 87) Göthlin, G. and Ericsson, J. L. E.: On the histogenesis of the cells in fracture callus. Electron microscopic autoradiographic observations in parabiotic rats and studies on labeled monocytes. *Virchows Arch. Abt. B Zellpath.* **12**: 318-329, 1973.
- 88) 早乙女絃一：破骨細胞形成過程の電子顕微鏡的研究。日整会誌 **48**: 185-202, 1974.
- 89) Walker, D. G.: Control of bone resorption by hematopoietic tissue. The induction and reversal of congenital osteopetrosis in mice through use of bone marrow and splenic transplants. *J. Exp. Med.* **142**: 651-663, 1975.
- 90) Buring, K.: On the origin of cells in heterotopic bone formation. *Clin. Orthop.* **110**: 293-302, 1975.
- 91) Amemiya, A.: Electron microscopic study of periosteal hyperostosis in rats with lathyrisms induced by aminoacetonitrile. *Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.* **13**: 319-348, 1966.
- 92) Stampfli, W. P. and Kerr, H. D.: Fractures of the femoral neck following pelvic irradiation. *Am. J. Roentgenol.* **57**: 71-83, 1947.